

UNIVERSIDAD DE CUENCA



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO**

**“CARACTERIZACIÓN DEL MUCILAGO DE CACAO CCN 51 MEDIANTE
ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE Y ABSORCIÓN ATÓMICA” CASO:
ECUADOR-ZONA 6.**

AUTOR:

EDWIN XAVIER QUIZHPI NIEVES.

0105280101

DIRECTOR:

MST. JORGE WASHINGTON DELGADO NOBOA

0103599411

CUENCA – ECUADOR

2016

RESUMEN.

Más de 12000 m³ de mucilago de cacao CCN-51 son producidos y abandonados en las fincas de cacao en el Ecuador cada año. El estudio tiene como objetivo caracterizar este residuo en la Zona 6. Las muestras se obtuvieron de 10 lugares dentro de la zona de estudio, las mismas que están geo referenciadas. Para el análisis se usó espectrofotometría UV-Visible para la identificación de azúcares reductoras totales, y espectrofotometría de absorción atómica para identificar minerales. Además se determinó parámetros físicos. Los resultados de los análisis fueron los siguientes: pH 4.05 ± 0.004 , los sólidos solubles fue de 17.15 ± 0.86 °Brix, la acidez Titulable fue 245.25 ± 21.19 meq/L. Por otra parte las azúcares reductoras totales fueron de 1228.82 ± 178.52 g/L y los de calcio, sodio y potasio fueron de 169.21 ± 31.04 mg/L, 161.85 ± 40.41 mg/L, 462.9 ± 49.96 mg/L respectivamente. Se analizó una muestra mediante espectroscopia de infrarrojo para identificar glucosa y sacarosa, los resultados de este análisis fueron 398 g/L, 800g/l, posteriormente se realizó un análisis t student con el resultado obtenido en espectrofotometría UV-Visible de las azúcares reductoras totales, como resultado final se estableció que no existe diferencia significativa entre las dos técnicas instrumentales.

Palabras Claves: Mucilago de cacao, Cacao CCN-51, residuo, UTM, espectroscopia.

Abstract.

More than 12000 m³ of juice from mucilage of cocoa CCN51 are produced and abandoned in Ecuador each year. The objective was the characterization the mucilage of cocoa CCN51. The samples were got in 10 different places in the zone 6. UV-Visible Spectrophotometry was used to identify reducing sugars and Absorption Atomic was used for minerals identify. Physical parameters were also determined. The results of analyses showed that the pH of the mucilage from cocoa CCN51 was 4.05 and its titratable acidity content was 245.25 meq/L. The citric acid was predominant in the mucilage. The total soluble solids were 17.15°Brix. Analyses also revealed that potassium and sodium contents of the mucilage of cocoa CCN51 were 462.9 mg/L and 161.85 mg/L, respectively. Other mineral like calcium were 169.21 mg/L. The reducing sugars content was very high with 1228.82 g/L.

Keys Words: mucilage of cocoa, cocoa CCN51, UTM, residue, spectroscopy.

ÍNDICE.

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO 2: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. GENERALIDADES DEL CACAO.....	3
2.1.1. CARACTERÍSTICAS DEL MUCILAGO DE CACAO.....	5
2.2. CACAO EN ECUADOR.....	6
2.2.1. CACAO CCN-51.....	7
2.2.2. PRINCIPALES ZONAS DE PRODUCCIÓN DE CACAO.....	11
2.3. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	15
2.3.1. FUNDAMENTO.....	15
2.3.2. ATOMIZACIÓN CON LLAMA.....	17
2.3.3. TIPOS DE LLAMAS.....	18
2.3.4. FUENTE DE RADIACIÓN.....	19
2.4. ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE.....	21
2.4.1. PRINCIPIOS BÁSICOS.....	21
2.4.2. LEY DE BEER.....	23
2.4.3. MÉTODO DE SOMOGYI-NELSON.....	24
2.5. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.....	27
2.6. ACIDEZ TITULABLE, pH Y GRADOS BRIX.....	28
2.7. MUESTREO.....	31
2.7.1. TIPOS DE MUESTREOS.....	32
2.7.2. NÚMERO DE MUESTRAS.....	33
2.8. MATRIZ DE PRIORIZACIÓN.....	34
2.9. ESTADÍSTICA EN QUÍMICA ANALÍTICA.....	35
2.9.1. ERRORES EN LOS ANÁLISIS QUÍMICOS.....	35
2.9.2. DISTRIBUCIÓN T- STUDENT.....	36
2.9.3. TÉRMINOS IMPORTANTES.....	37
CAPITULO 3: MÉTODOS Y MATERIALES.....	38
3.1. MÉTODOS.....	38
3.1.1. PLAN DE MUESTREO.....	38
3.1.2. ANÁLISIS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	42
3.1.3. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE.....	45

3.1.4.	ANÁLISIS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE.....	45
3.1.5.	CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES MEDIANTE ESPECTROSCOPIA FT-IR.	47
3.1.6.	DETERMINACIÓN DE pH y GRADOS Brix.	49
3.2.	MATERIALES Y REACTIVOS.	50
3.2.1.	Materiales: Extracción del Mucilago.	50
3.2.2.	Materiales: Digestión de la muestra.	50
3.2.3.	Materiales: Cuantificación de sodio, potasio y calcio por absorción atómica. 50	
3.2.4.	Materiales: Cuantificación de Azúcares Reductores Totales Espectrofotometría UV-Visible.	51
3.2.5.	Materiales: Cuantificación de pH, Acidez Titulable y grados Brix.	51
3.2.6.	REACTIVOS.....	52
	CAPÍTULO 4: RESULTADOS	55
4.1.	EXTRACCIÓN DEL MUCILAGO.	55
4.2.	CUANTIFICACIÓN DE SODIO, POTASIO Y CALCIO MEDIANTE ABSORCIÓN ATÓMICA.	56
4.2.1.	DETERMINACIÓN DE SODIO Y POTASIO.	56
4.2.2.	DETERMINACIÓN DE CALCIO (Ca).....	59
4.3.	DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE.	60
4.4.	DETERMINACIÓN DE pH.	62
4.5.	DETERMINACIÓN DE Brix.....	62
4.6.	DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE.	63
4.7.	DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRAROJO.	64
4.7.1.	CÁLCULO T STUDENT: AZÚCARES REDUCTORES TOTALES	64
4.8.	TABLA RESUMEN.....	64
	CONCLUSIONES.....	66
	BIBLIOGRAFIA.....	69
	ANEXOS.....	71
Anexo 1.	NORMA INEN 1750 (TAMAÑO DE MUESTRA)	71
Anexo 2.	CÁLCULOS REALIZADOS: CUANTIFICACIÓN DE SODIO Y POTASIO....	71

Anexo 3. CALCULOS REALIZADOS: CUANTIFICACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES TOTALES.	74
Anexo 4. DETERMINACION DE Hg EN EL MUCILAGO DE CACAO CCN-51.....	77
Anexo 5. TABLA t STUDENT.....	79
Anexo 6. EQUIPOS USADOS EN EL ESTUDIO	80
Anexo 7. IMÁGENES DEL MUESTREO Y LA EXTRACCION DE LAS MUESTRAS..	81

LISTA DE ILUSTRACIONES.

Ilustración 1.Tendencia de la producción de Cacao en Ecuador	2
Ilustración 2.Fruto del Cacao.....	4
Ilustración 3. Mapa Político del Ecuador.	11
Ilustración 4. Mapa del Ecuador por Zonas.....	12
Ilustración 5. Zonas productoras de cacao	14
Ilustración 6. Instrumentación para Absorción Atómica	17
Ilustración 9.Lámpara de Cátodo Hueco.	19
Ilustración 10.Lámpara de descarga sin electrodos.	20
Ilustración 11.El espectro electromagnético.	21
Ilustración 12. Grafico Ley de Snell.....	30
Ilustración 13. Mapa con la ubicación de las Muestras.....	56
Ilustración 14. Curva de Calibración del Sodio.....	58
Ilustración 15. Curva de Calibración del Potasio.....	58
Ilustración 16. Curva de Calibración del Calcio	60
Ilustración 17. Curva de Calibración: Azucares Reductoras	62

LISTA DE TABLAS.

Tabla 1. Producción de Cacao en Ecuador.....	1
Tabla 2. Característica del Mucilago de <i>Theobroma Cacao</i>	5
Tabla 3. Clasificación Botánica: CCN-51.....	7
Tabla 4. Características del Cacao CCN 51	9
Tabla 5. Regiones o Zonas del Ecuador	12
Tabla 6. Cultivo de Cacao en Ecuador	13
Tabla 7.Tabla de propiedades de la llama	18
Tabla 8.Matriz de ponderación para la selección del método de muestreo.....	38
Tabla 9.Matriz de ponderación para el tipo de muestreo.....	39
Tabla 10. Materiales Usados en la extracción del Mucilago	50
Tabla 11. Materiales usados en la digestión de la muestra.....	50
Tabla 12. Materiales usados en Absorción Atómica.....	50

Tabla 13. Materiales usados en Espectrofotometría UV-Visible.....	51
Tabla 14. Materiales usados en la determinación de: pH, °Brix, Acidez.	51
Tabla 15. Reactivos: Absorción Atómica.....	52
Tabla 16. Reactivos: Espectrofotometría UV-Visible.....	52
Tabla 17. Reactivos: Acidez Titulable	53
Tabla 18.Datos de la Extracción: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6.....	55
Tabla 19. Puntos geo referenciales de muestras: Cacao CCN-51 Zona: 6.....	55
Tabla 20. Concentración de Na y K (incluye duplicados): mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6.....	56
Tabla 21. Concentración de Na y K: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6.....	57
Tabla 22. Diferencia entre duplicados de la Cuantificación del Na y K.	57
Tabla 23. Concentración media del Na y K: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6.....	59
Tabla 24. Concentración de Ca (incluye duplicados): mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6	59
Tabla 25. Concentración de K: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6	59
Tabla 26. Concentración de Azúcares reductoras totales (incluye duplicados): mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6.....	60
Tabla 27.Concentración de Azúcares Reductoras totales: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6.....	61
Tabla 28. pH de las muestras de mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6.....	62
Tabla 29. °Brix: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6	62
Tabla 30. Acidez Titulable: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6	63
Tabla 33. Resultado del Análisis en Infrarrojo	64
Tabla 31.Tabla resumen de parámetros: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6	64
Tabla 32. Tabla Comparativa de Resultados.....	65
Tabla 34. Tamaño de la muestra.	71
Tabla 35. Respuesta del Equipo de Absorción Atómica: Na y K (ppm)	71
Tabla 36. Cálculos para la determinación de Sodio en Absorción Atómica.....	72
Tabla 37. Cálculos para determinar Potasio: Absorción Atómica.	73
Tabla 38. Respuesta Instrumental: Espectrofotometría UV-Visible	74
Tabla 39. Concentración Obtenida de la Curva de Calibración Espectrofotometría UV- Visible.....	75
Tabla 40. Concentración de Azúcares Reductoras Totales	76



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Edwin Xavier Quizhpi Nieves, autor de la tesis "CARACTERIZACIÓN DEL MUCILAGO DE CACAO CCN 51 MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE Y ABSORCIÓN ATÓMICA CASO: ECUADOR-ZONA 6", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 11 de julio del 2016

Edwin Xavier Quizhpi Nieves

C.I: 0105280101



Edwin Xavier Quizhpi Nieves, autor de la tesis "CARACTERIZACIÓN DEL MUCILAGO DE CACAO CCN 51 MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE Y ABSORCIÓN ATÓMICA CASO: ECUADOR-ZONA 6", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Ingeniero Químico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como auto.

Cuenca, 11 de julio del 2016

Edwin Xavier Quizhpi Nieves

C.I: 0105280101

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN.

El objetivo general es Caracterizar el mucilago de cacao CCN-51 mediante espectrofotometría UV-Visible y absorción atómica” caso: Ecuador-zona 6.

Los objetivos específicos son: realizar un muestreo al azar usando el método de cuadrantes y la caracterización de la pulpa mucilaginoso mediante técnicas analíticas de espectrofotometría UV-Visible y absorción atómica.

El tema de estudio establece información base del mucilago de cacao CCN-51 desde el punto de vista físico y químico, ya que no existe información del mismo lo cual no permite establecer un uso adecuado para este residuo de la industria del cacao.

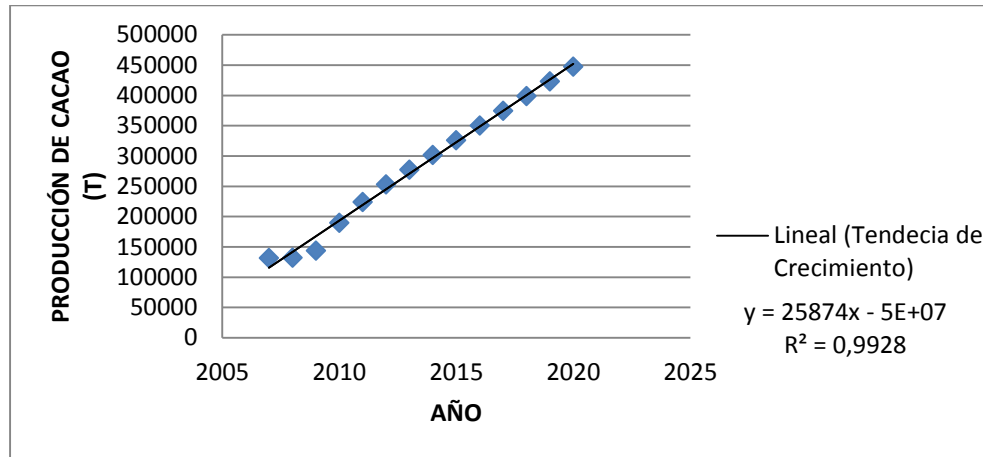
En el 2014 el Ecuador pasó a ocupar el 5 lugar en producción de cacao a nivel mundial. Su producción, que alcanzó las 240 mil toneladas métricas, de las cuales 230 mil han sido destinadas al mercado de exportación, por tal motivo ha ingresado en este sitio (AmericaEconomía, 2014). La tendencia para el Ecuador es de incrementar sus volúmenes de producción y exportación con el transcurso de los años, indistintamente de las fluctuaciones o variación de los precios internacionales según los mercados (ANECACAO, 2015).

Tabla 1. Producción de Cacao en Ecuador

AÑO	PRODUCCIÓN CACAO (Toneladas)
2007	131419
2008	132100
2009	143945
2010	189755
2011	224163

Fuente: (CORPEI, 2013)

Ilustración 1. Tendencia de la producción de Cacao en Ecuador



Fuente: (CORPEI, 2013)

Como se puede observar en la **ilustración 1** la producción de cacao en el país tiene una tendencia de incremento para los próximos años con una tasa de incremento promedio anual del 14.28 % para la producción de cacao (CORPEI, 2013). La industria del cacao genera dos residuos (cáscara, mucílago) los cuales tienen una relación directa con los volúmenes de producción, de ahí la importancia de encontrar un uso idónea para el mucilago del cacao puesto que para la cascara ya se han establecido algunos usos como se mencionara más adelante.

La metodología fue la siguiente: se realizó un muestreo en distintos lugares dentro de la zona 6, además se geo referencio cada muestra, luego estas fueron llevadas al laboratorio en donde se dio un tratamiento a la misma y posterior a esto se realizó el análisis mediante técnicas instrumentales (absorción Atómica, Espectrofotometría UV-Visible), técnicas volumétricas y potenciométricas, en las técnicas instrumentales se realizó las curvas de calibración correspondientes y su respectivo análisis estadístico. Finalmente se realizó el análisis estadístico de cada parámetro: pH, °Brix, Acidez Titulable, Azucares Reductores Totales, Sodio, Potasio y Calcio, se presenta un valor medio de cada parámetro con su respectiva desviación estándar.



CAPITULO 2: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. GENERALIDADES DEL CACAO.

El cacao es una planta tropical que pertenece al género *Theobroma* de la familia de las Esterculiáres, que comprenden unas 20 especies: de estas la *Theobroma cacao* es una de las más conocidas por su importancia económica y social (INIAP, 1999).

Por mucho tiempo ha existido confusión en la ubicación taxonómica del cacao comercial debido a su variabilidad genética en cuanto a caracteres de color, forma y dimensiones las distintas partes de la flor, del fruto y semilla. Sin embargo, como un punto de partida se admite que la mayor parte del cacao comerciales pertenece a uno sola especie (*Theobroma cacao*), que comprende tres complejos genéticos (INIAP, 1999) .

I. Los criollos.

Originarios de Venezuela estos presentan cotiledones de color blanco.

II. Forasteros.

El grupo comprende a los cacaos de Brasil y África Occidental, que proporcionan el 80% de la producción mundial. Caracterizados por sus estaminoides pigmentados de violeta, las mazorcas son amarillas cuando están maduras, con surcos (INIAP, 1999).

La Cascara de la mazorca es relativamente gruesas, con mesocarpio rico en lignina. Granos más o menos aplastados con cotiledones frescos de color purpura oscuro. Estos requieren un periodo de 4 a 6 días de fermentación.

III. Amazónicos.

Similares en aroma a los criollos.

IV. Trinitarios.

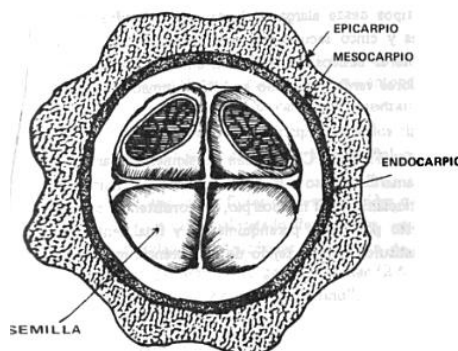
Estos ocupan del 10 al 18 % de la producción mundial. Botánicamente son un grupo complejo, constituido por una población híbrida, estos poseen características genéticas, morfológicas y de calidad intermedias entre los criollos y forasteros, por lo que existe una gran diversidad (INIAP, 1999).

En el Ecuador la variedad de origen es conocida como “Nacional” o cacao fino de aroma, esta se mantuvo como variedad exclusiva en el país hasta aproximadamente 1890, ya que en ese año fue introducida a la provincia de los Ríos la variedad conocida como “cacao venezolano” perteneciente al complejo genético de los Trinitarios (INIAP, 1999). Hoy en día la mayor parte del cacao ecuatoriano corresponde a una mezcla del cacao Nacional, Trinitario y Forastero, la cantidad de cacao tipo Nacional puro es cada día menor y puede desaparecer poco a poco debido a que las plantaciones existentes son muy viejas, poco productivas y los agricultores podrían preferir producir otros cultivos más remunerativos (CORPEI, 2013).

En cuanto a la botánica del Cacao está constituido por raíz, tallo, hojas, ramas, flor y el fruto, este último llamado comúnmente mazorca, es una drupa grande sostenida por un pedúnculo fuerte fibroso; su forma varía considerablemente y ha servido de base para determinar las diferentes variedades dentro de la especie.

Generalmente es ovalado, pero hay tipos desde alargados hasta casi redondos; tiene cinco surcos longitudinales principales y cinco secundarios que se alteran con los principales. En la madurez los colores básicos del fruto son amarillo claro a rojo anaranjado, correspondiendo a los colores verde y morado en estado inmaduro (INIAP, 1999).

Ilustración 2. Fruto del Cacao



Fuente: (INIAP, 1999)

El fruto del cacao, contiene granos de cacao que son masivamente explotados a nivel mundial y solo en él se han centrado los intereses económicos (Bartley, 2005).

2.1.1. CARACTERÍSTICAS DEL MUCILAGO DE CACAO.

En la industria del cacao se generan dos residuos considerables la cáscara y el mucílago, la cáscara es usada como abono o alimento para animales (Kalvatchev, Garzaro, & Guerra, 1998). En cuanto al mucilago no se han establecido usos tan claros y específicos como los que posee la cáscara, la pulpa mucilaginoso que rodea la semilla de cacao está compuesta por células esponjosas parenquimatosas, que contienen células de savia ricas en azúcares, pentosas, ácido cítrico y sales (Kalvatchev, Garzaro, & Guerra, 1998). Durante el proceso de fermentación la pulpa provee el sustrato para varios microorganismo que son esenciales para el desarrollo de los precursores del sabor del chocolate, aunque la pulpa es necesaria para la fermentación esta se encuentra en exceso por lo que debe ser removida generando un exudado, existe una relación de pulpa y semilla fresca aproximadamente 40 litros de pulpa se obtiene de 800 Kilos de semilla fresca (Kalvatchev, Garzaro, & Guerra, 1998). Considerando que en el 2014 se obtuvo una producción de cacao absoluto de 65688.43 T, se puede determinar aproximadamente que se tuvo 3284421.5 litros de exudado y este exudado aumentara ya que los volúmenes de producción incrementaran para los próximos años (ANECACAO, 2015).

Del mucilago de *Theobroma cacao* se tiene una referencia, la misma que fue realizada en Costa de Marfil en el año de 2009, el mismo exponen una tabla de caracterización de mucilago de *Theobroma cacao*, dichos parámetros se presentan a continuación.

Tabla 2. Característica del Mucilago de *Theobroma Cacao*.

PARÁMETRO	CANTIDAD
-----------	----------

Total de solidos solubles (°Brix)	16.17±0.74
Azucares Reductores Totales (g/L)	235.31±6.42
pH	3.75±0.81
Acidez Titulable (meq/L)	170±6.28
Calcio (mg/L)	171.5 ±34.01
Sodio (mg/L)	30.5±3.77
Potasio (mg/L)	950±16.32

FUENTE: (Anvoh, Zoro Bi, & Gnakri, 2009)

2.2. CACAO EN ECUADOR.

El cacao ha sido desde sus inicios en Ecuador, un cultivo muy importante siendo la mayor fuente de divisas por muchos años. Esto le otorgó un espacio relevante y un rol en la historia de la economía nacional. Esta presencia ha permitido que el cacao sea parte de la cultura de las comunidades rurales y de los cultivos tradicionales del país. Los datos disponibles hasta el 2011, indican una producción de 224163 TM, con una superficie sembrada de 521091 hm² y una superficie cosechada de 399467 hm² (CORPEI, 2013). En cuanto a las exportaciones del cacao y sus derivados registran un aumento constante con una Tasa de Crecimiento Promedio Anual de 13.80%, el 2011 fue el año que registro el mayor aumento del volumen exportado a 181838 TM (CORPEI, 2013)

El sector cuenta con 95000 productores, de los cuales 55 mil son pequeños productores de menos de 10 hm², 363 acopiadores, 48 exportadores y 10 empresas procesadoras (CORPEI, 2013). Aproximadamente el 12% de los productores se encuentran asociados. Los exportadores se encuentran asociados en dos asociaciones, APROCAFA que agrupa a los exportadores de cacao fino y de aroma y ANECACAO que agrupa a los exportadores de cacao CCN-51, cacao clasificado como común (Banco Central del Ecuador, 2015).

En el Ecuador las variedades más importantes de cacao son el Nacional y el CCN-51, este último representa el 30% del total de caco en grano producido en el país (El Agro, 2015). Además el cacao CNN-51 es reconocido como de alta

productividad, este presenta una auto-polinización, el número de mazorcas es mayor a 50 unidades, el producto que se obtiene es homogéneo, posee un alto nivel de grasa y las pepas están adaptadas a una demanda industrial (Bainville, 2005).

2.2.1. CACAO CCN-51.

EL CCN-51 es un cacao clonado de origen ecuatoriano que el 22 de junio del 2005 fue declarado, mediante acuerdo ministerial, un bien de alta productividad y este clon cultivado en Ecuador es considerado cacao ordinario, corriente o común.

El agrónomo Homero Castro Zurita en 1965 fue quien desarrollo el denominado cacao clonado CCN-51 que significa Colección Castro Naranjal (ANECACAO, 2015).

Tabla 3. Clasificación Botánica: CCN-51

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Malvales
Familia	Sterculiaceae
Género	Theobroma
Especie	T. cacao.

Fuente: (INIAP, 1999)

2.2.1.1. CARACTERÍSTICAS DEL CACAO CCN-51.

El tamaño del árbol esta entre los 5m y 8m, este posee una raíz principal y muchas secundarias, de las cuales la mayoría se encuentran en los primeros 30 cm del suelo. Las hojas son simples, enteras y de color verde bastante variable (color café claro, morado o rojizo, verde pálido) y de peciolo corto. En cuanto a las flores estas son pequeñas y se producen en racimos pequeños sobre el tronco y las ramas, alrededor de donde antes hubo hojas, la polinización entomófila destaca un mosquito del genero *Forcipomya*.

El fruto tiene color tamaño y formas variables. Generalmente tiene forma de baya, de 30cm de largo y 10 cm de diámetro. Puede ser liso o acostillado de forma elíptica y de color rojo, amarilló, morado o café, el fruto es de sabor ácido, dulce y aromático. El número de semillas por baya oscila entre los 20 y 40 y pueden ser planas o redondas (Paredes, 2009).

Imagen del árbol de cacao.



Imagen del fruto del Cacao.



Imagen del grano del Cacao



La siguiente tabla expone las características del cacao CCN-51 esto de acuerdo a la norma INEN 176, se tiene la siguiente tabla.

Tabla 4. Características del Cacao CCN 51

PARÁMETRO	UNIDAD	CCN-51
	g.	135-140
Pastoso	%	18
Violeta	%	5
Ligera fermentación	%	11
Buena fermentación	%	65
Fermentación Total	%	76
Impurezas	%	1
Moho	%	1
Humedad	%	7

Fuente: INEN 176.

2.2.1.2. REQUERIMIENTOS CLIMATICOS: CACAO CCN-51.

El cacao es una especie que se adapta principalmente a las zonas tropicales. Es importante brindarle al cultivo las condiciones adecuadas para que este pueda desarrollarse con normalidad.

Temperatura: es un factor importante debido a su relación con el desarrollo, floración y fructificación del cultivo de cacao. El cacao CCN-51 presenta floración



normal y abundante a 25⁰C. La temperatura para el cultivo debe estar entre los siguientes valores: mínima 23⁰C, máxima 32⁰C, óptima de 25⁰C (Paredes, 2009).

Agua: el cacao CCN-51 no tolera la escasez de agua, como tampoco el encharcamiento. Es por este motivo que se debe tener control de drenaje minucioso en el área de sembrado. La precipitación óptima para el cacao es de 1600 mm a 2500 mm distribuidos durante todo el año (Paredes, 2009).

Luminosidad: la luz es otro de los factores ambientales de suma importancia para el desarrollo del cacao, especialmente para la fotosíntesis, la cual ocurre a baja intensidad aun cuando la planta este a plena exposición solar. En la etapa de establecimiento del cultivo de cacao es recomendable la siembra de otras plantas para hacer sombra, debido a que las plantaciones jóvenes de cacao son afectadas por acción directa de los rayos solares. Para plantaciones ya establecidas, se considera que una intensidad lumínica menor al 50% del total de la luz limita los rendimientos, mientras que una intensidad superior al 50% del total de la luz los aumenta, pero reduce la vida productiva del árbol (Paredes, 2009).

Altitud: el cacao crece en las zonas tropicales, cultivándose desde el nivel del mar hasta los 800 metros de altitud. Sin embargo, en latitudes cercanas al ecuador las plantaciones se desarrollan normalmente en altitudes mayores que van del orden de los 1000 msnm hasta 1400 msnm (INIAP, 1999).

2.2.2. PRINCIPALES ZONAS DE PRODUCCIÓN DE CACAO.

El Ecuador es una República democrática e independiente, tiene una extensión de 283.561 Km² y una población cercana a los 15 millones de habitantes. El Ecuador es un Estado constitucional republicano y descentralizado, dividido políticamente en 24 provincias.

Ilustración 3. Mapa Político del Ecuador.



Fuente: (Secretaria Nacional de Planificación y Desarrollo, 2013)

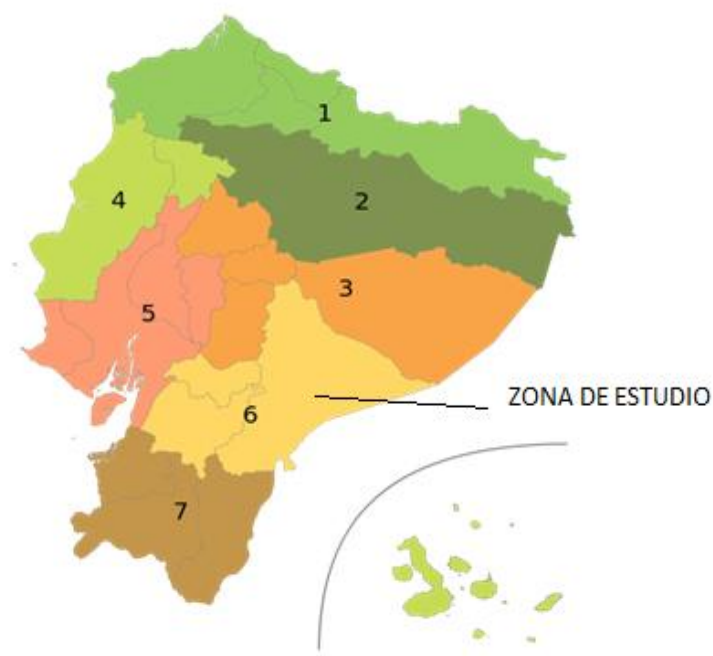
El Ecuador en el año 2009, adaptó una distribución territorial que establece regiones o Zonas de planificación, esta zonificación es la unión de 2 o más provincias contiguas. En el Ecuador existen 7 regiones o zonas, conformadas cada una por las siguientes provincias.

Tabla 5. Regiones o Zonas del Ecuador

Zona 1	Zona 2	Zona 3	Zona 4	Zona 5	Zona 6	Zona 7
Esmeraldas	Pichincha	Chimborazo	Manabí	Santa Elena	Cañar	El Oro
Carchi	Napo	Tungurahua	Galápagos	Guayas	Azuay	Loja
Imbabura	Orellana	Pastaza	Santo Domingo de los Tsachilas	Los Ríos	Morona Santiago	Zamora Chinchipe
Sucumbios		Cotopaxi		Bolívar		

Fuente: (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2013)

Ilustración 4. Mapa del Ecuador por Zonas



Fuente: (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2013)

En Ecuador el cultivo de cacao se encuentra distribuido casi en su totalidad en la región costera, a diferentes estratos que van de 0 hasta 400 m sobre el nivel del mar. Se identifican 3 zonas ecológicas distintas (norte, central y sur) comprendidas

entre las latitudes 1.5°N y 4°S , las mismas que incluyen pequeñas áreas de las estribaciones de la cordillera Occidental. En la zona oriental también se encuentra cacao (INIAP, 1999). La producción de cacao en el 2014 fue de 133323 t/año de almendra seca, para ello se utilizó una superficie de 507721 hm^2 . Este producto tiene un periodo de cosecha anual, en cuanto a la variedad se tiene el Cacao Nacional Sabor Arriba y CCN-51, las provincias productoras más importantes son: Guayas, Los Ríos, Esmeraldas, Manabí (ESIN Consultoras S.A, 2014).

En la siguiente tabla se ilustra todas las provincias productoras cacao y su producción anual en toneladas.

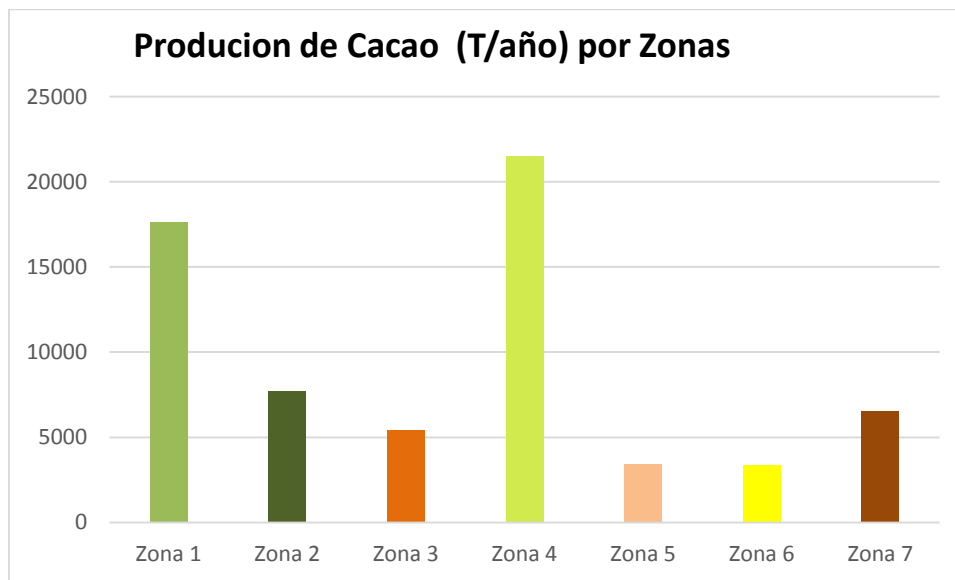
Tabla 6. Cultivo de Cacao en Ecuador

PROVINCIA	SUPERFICIE (Km^2)	PRODUCCIÓN ABSOLUTA (T/AÑO)	DENSIDAD DE PRODUCCIÓN ($\text{T/Km}^2/\text{año}$)
MANABÍ	12096,78	17529,5	14,78
ESMERALDAS	15753,51	14815,33	4,79
EL ORO	2999,6	6232,78	11,79
COTOPAXI	2679,1	5053,69	6,74
PICHINCHA	1545,37	4038,53	5,64
SATO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS	3770,43	4003,58	2,67
BOLÍVAR	3110,44	3450,87	14,62
CAÑAR	2117,4	2985,12	5,56
SUCUMBÍOS	6943,14	2834,89	1,11
ORELLANA	10432,35	2158,11	1,22
NAPO	6950,38	1518,89	0,41
AZUAY	585,09	374,67	0,64
PASTAZA	8864,29	348,03	0,04
ZAMORA CHINCHIPE	1015,9	344,44	0,34

Fuente: (ESIN Consultoras S.A, 2014)

Se presenta a continuación un gráfico que expone la producción de Cacao en T/año, en cada una de las zonas del Ecuador.

Ilustración 5. Zonas productoras de cacao



Fuente: (ESIN Consultoras S.A, 2014)

El presente estudio se desarrolló en la zona 6 la misma que está comprendida por las provincias de Azuay, Cañar y Morona Santiago y tiene una producción de 3359.79 T/año.

2.3. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

Espectroscopia es la medición e interpretación de la radiación electromagnética absorbida, dispersada o emitida por átomos, moléculas u otras especies químicas. Estos fenómenos están asociados con cambios en los estados de energía de las diferentes especies y, ya que cada especie posee estados energéticos característicos, la espectroscopia puede utilizarse para identificarlas y cuantificarlas, la espectroscopia atómica se usa para determinar cualitativa y cuantitativamente alrededor de unos 70 elementos. La sensibilidad típica de los métodos atómicos va de partes por millón a partes por billón. Además estos son métodos rápidos, posee una notable sensibilidad y un coste moderado de los instrumentos.

El estudio espectroscópico de átomos con radiación ultravioleta y visible sólo se puede hacer en fase gaseosa, que es donde los átomos, iones se encuentran bien separados entre sí (Skoog, West, & Holler, 2001).

2.3.1. FUNDAMENTO.

El átomo consiste de un núcleo y de un número determinado de electrones que llenan ciertos niveles cuánticos. La configuración más estable de un átomo corresponde a la de menor contenido energético conocido como “estado fundamental”.

Si un átomo que se encuentre en un estado fundamental absorbe una determinada energía, éste experimenta una transición hacia un estado particular de mayor energía. Como este estado es inestable, el átomo regresa a su configuración inicial, emitiendo una radiación de una determinada frecuencia.

La frecuencia de la energía emitida corresponde a la diferencia de energía entre el estado excitado (E_1) y el estado fundamental (E_0) como se encuentra descrito en la ecuación de Planck.

$$E = E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (1)$$



h =constante de Planck; ν =frecuencia; c =velocidad de la luz; λ =longitud de onda.

Según la teoría atómica, el átomo puede alcanzar diferentes estados (E_1 , E_2 , E_3 E_n) y cada uno de ellos emitir una radiación (λ_1 , λ_2 , λ_3 ,.... λ_n) característica, obteniéndose así un espectro atómico, caracterizado por presentar un gran número de líneas discretas. En absorción atómica es relevante solamente aquella longitud de onda correspondiente a una transición entre el estado fundamental de un átomo y el primer estado excitado y se conoce como longitud de onda de resonancia. De la ecuación de Planck, se tiene que un átomo podrá absorber solamente radiación de una longitud de onda específica. En absorción atómica interesa medir la absorción de esta radiación de resonancia al hacerla pasar a través de una población de átomos libres en estado fundamental. Estos absorberán parte de la radiación en forma proporcional a su concentración atómica. La relación entre absorción y concentración se encuentra definida en la ley de Lambert-Beer. Como la trayectoria de la radiación permanece constante y el coeficiente de absorción es característico para cada elemento, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de las especies absorbentes (Castro, 2000).

Los componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica.

- Una fuente de radiación.
- Un nebulizador.
- Un quemador.
- Sistema óptico que separe la radiación de longitud de onda de interés, de todas las demás radiaciones que entran ha dicho sistema.
- Un detector o transductor, que sea capaz de transformar, en relación proporcional, las señales de intensidad de radiación electromagnética, en señales eléctricas o intensidad de corriente.
- Un amplificador.
- Sistema de lectura.

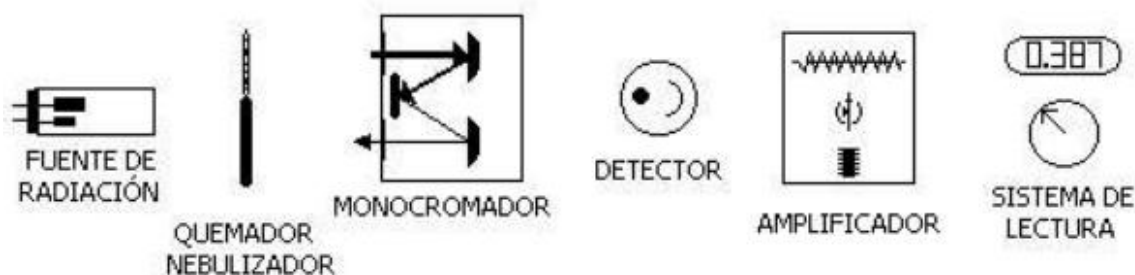


Ilustración 6. Instrumentación para Absorción Atómica

Fuente: (Castro, 2000)

2.3.2. ATOMIZACIÓN CON LLAMA.

En un atomizador de llama, la disolución de las muestras es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante, mezclado con el gas combustible, y se transporta a una llama donde se produce la atomización, en dicha llama se producen una serie compleja de procesos encadenados.

La desolvatación es una etapa en donde se evapora el disolvente hasta producir un aerosol molecular sólido finamente dividido, luego la disociación de la mayoría de estas moléculas produce un gas atómico, la mayoría de los átomos así formados se ionizan originando cationes y electrones. Indudablemente se producen también otras moléculas y átomos en la llama como resultado de las interacciones del gas combustible con el gas oxidante y las distintas especies de la muestra, una fracción de las moléculas, átomos e iones también se excitan por el calor de la llama, produciéndose así espectros de emisión molecular, atómicos e iónicos. Ya que se dan una serie de procesos complejos, no es sorprendente que la atomización sea etapa más crítica en la espectroscopia de llama y la que limita la precisión de dichos métodos. Debido a la naturaleza crítica de la etapa de atomización, es importante comprender las características de las llamas y las variables que afectan a dichas características (Skoog, West, & Holler, 2001).

2.3.3. TIPOS DE LLAMAS.

Tabla 7. Tabla de propiedades de la llama

COMBUSTIBLE	OXIDANTE	TEMPERATURA °C	VELOCIDAD COMBUSTIBLE MÁXIMA (cm ³ /s)
GAS NATURAL	AIRE	1700-1900	39-43
GAS NATURAL	OXIGENO	2700-2800	370-390
HIDROGENO	AIRE	2000-2100	300-440
HIDROGENO	OXIGENO	2550-2700	900-1400
ACETILENO	AIRE	2100-2400	158-266
ACETILENO	OXIGENO	3050-3150	1100-2480
ACETILENO	OXIDO NITROSO	2600-2800	285

(Skoog, West, & Holler, 2001)

En la **tabla 7** se enumera los combustibles y oxidantes que son usados comúnmente en espectroscopia de llama de igual manera los intervalos de temperatura que alcanzan cada una de las mezclas. Hay que destacar que cuando se usa aire como oxidante se obtiene temperaturas de 1700 a 2400 °C con varios combustibles. A esta temperatura se atomizan las muestras que se descomponen fácilmente. Para la mayoría de muestras refractarias, se debe emplear oxígeno u óxido nítrico como oxidantes estos oxidantes producen una temperatura de 2500 a 3100 °C con los combustibles habituales.

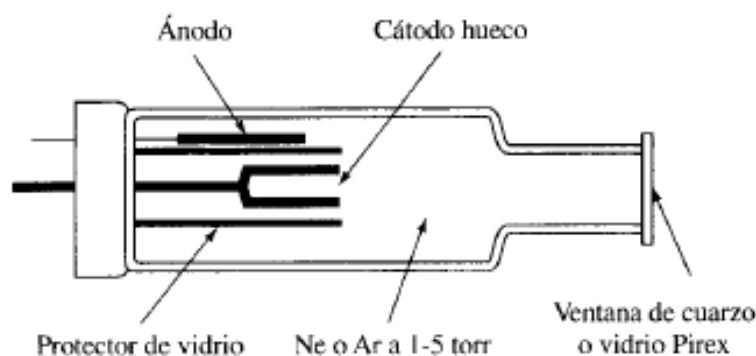
Las velocidades del combustible son de considerable importancia puesto que las llamas son únicamente estables en ciertos intervalos de caudal. Si el caudal no sobre pasa la velocidad de combustión, la llama se propaga hacia el interior del quemador, dando un fogonazo. Cuando el caudal aumenta, la llama sube hasta alcanzar un punto por encima del quemador donde el caudal y la velocidad de combustión son iguales. En esta región es donde la llama es estable. A caudales más elevados, la llama sube y al final alcanza un punto donde se aparte del mechero y se apaga. Por ende es importante el control del caudal de la mezcla combustible/oxidante. Este caudal depende mucho del tipo de combustible y de oxidante utilizados (Skoog, West, & Holler, 2001).

2.3.4. FUENTE DE RADIACIÓN.

2.3.4.1. LÁMPARAS DE CÁTODO HUECO.

La fuente más común para las medidas de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco. Este tipo de lámpara consiste en un ánodo de wolframio y un cátodo cilíndrico cerrados herméticamente en un tubo de vidrio lleno con neón o argón a una presión de 1 a 5 torr. El cátodo está constituido con el metal cuyo espectro se desea obtener, o bien, sirve de soporte para una capa de dicho metal. Cuando se aplica un potencial del orden de 300 V entre los electrodos se produce la ionización del gas inerte, lo que da lugar a una corriente de aproximadamente 5 a 15 mA al tiempo que los iones y electrones migran hacia los electrodos (Skoog, West, & Holler, 2001). Si el potencial es lo suficientemente grande, los cationes gaseosos adquieren la suficiente energía cinética como para arrancar algunos de los átomos metálicos de la superficie del cátodo y producir una nube atómica; a este proceso se le denomina chisporroteo. Una parte de los átomos metálicos desprendidos se encuentran en estado excitado y, de este modo, al volver al estado fundamental emiten su radiación característica. Al final, los átomos metálicos se vuelven a depositar difundiendo de nuevo hacia la superficie del cátodo o hacia las paredes del tubo.

Ilustración 7. Lámpara de Cátodo Hueco.

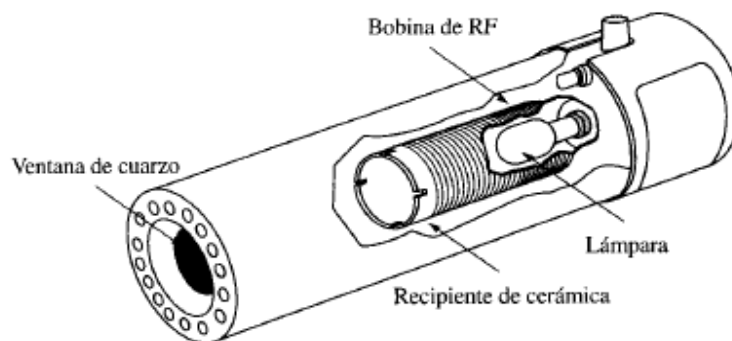


Fuente: (Skoog, West, & Holler, 2001)

2.3.4.2. LÁMPARA DE DESCARGA SIN ELECTRODOS.

Son fuentes de espectros atómicos muy utilizadas y, por lo general, producen intensidades radiantes que son uno o dos órdenes de magnitud superiores a las lámparas de cátodo hueco. Una lámpara típica está constituida por un tubo de cuarzo herméticamente cerrado que contiene un gas inerte, como el argón, a unos pocos torr y una pequeña cantidad del metal (o su sal) cuyo espectro se desea obtener. La lámpara no contiene electrodos pero, en su lugar, para su activación se utiliza un campo intenso de radiofrecuencia o radiación de microondas. De esta forma, se produce la ionización del argón, originándose iones que son acelerados para la componente de radiofrecuencia del campo hasta que adquiere la suficiente energía para excitar a los átomos del metal cuyo espectro se desea. Existen lámparas de descarga sin electrodos comercializadas para 15 o más elementos, todas estas utilizan una fuente de radiofrecuencia de 27 MHz (Skoog, West, & Holler, 2001).

Ilustración 8. Lámpara de descarga sin electrodos.



Fuente: (Skoog, West, & Holler, 2001)

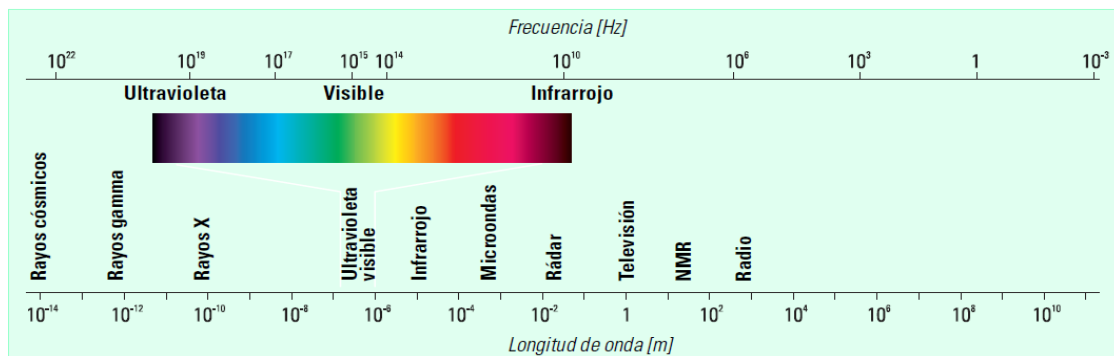
2.4. ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE.

2.4.1. PRINCIPIOS BÁSICOS.

2.4.1.1. ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO.

La radiación ultra violeta (UV) y visible comprende sólo una pequeña parte del espectro electromagnético, el cual incluye además otras formas de radiación como radio, infrarrojo (IR), cósmica y rayos X.

Ilustración 9.El espectro electromagnético.



Fuente: (Owen, 2000)

La energía asociada con la radiación electromagnética se define por la siguiente ecuación:

$$E = hv \quad (2)$$

Donde E es la energía (en julios), h es la constante de Planck (6.62×10^{-34} Js) y v es la frecuencia (en segundos).

2.4.1.2. LONGITUD DE ONDA Y FRECUENCIA

La radiación electromagnética puede considerarse una combinación de campos eléctricos y magnéticos alternos que viajan por el espacio con un movimiento de onda. Como la radiación actúa como una onda, puede clasificarse según la longitud de ésta o la frecuencia, relacionadas por:

$$v = \frac{c}{\lambda} \quad (3)$$



Donde ν es la frecuencia (en segundos), c es la velocidad de la luz ($3 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$) y λ es la longitud de onda (metros) en espectroscopía UV – visible, la longitud de onda normalmente se expresa en nanómetros ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$).

De las ecuaciones 2 y 3 se deduce que la radiación con longitud de onda más corta tiene mayor energía. En espectroscopia UV – visible, la luz UV de longitud de onda más pequeña tiene la energía más alta. En algunos casos, esta energía es suficiente para causar reacciones fotoquímicas no deseadas al medir los espectros (Owen, 2000).

2.4.1.3. ORIGEN DE LOS ESPECTROS UV – VISIBLE.

Cuando la radiación interacciona con la materia, puede ocurrir varios procesos como reflexión, dispersión, absorción, fluorescencia/fosforescencia y una reacción fotoquímica (absorción y rotura de enlaces). En general, cuando se mide espectros UV – visible, solo es deseable que ocurra absorción.

Como la luz es una forma de energía, la absorción de la luz por la materia causa que aumente el contenido de energía de las moléculas (átomos). La energía potencial total de una molécula, generalmente se representa como la suma de sus energías electrónica, vibracional y rotacional.

$$E_{total} = E_{electronica} + E_{vibracional} + E_{rotacional} \quad (4)$$

La cantidad de energía que una molécula posee en cada forma no es un continuo, sino una serie de niveles o estados discretos. La diferencia de energía entre los diferentes estados es el siguiente:

$$E_{electronica} > E_{vibracional} > E_{rotacional}$$

En algunas moléculas y átomos, los fotones de luz UV y visible tienen suficiente energía para causar transiciones entre los diferentes niveles. La longitud de onda de la luz absorbida es aquella que tiene la energía requerida para mover un electrón desde un nivel de energía inferior a uno superior.

2.4.2. LEY DE BEER.

Si 100 fotones de luz entran en una cubeta y sólo 50 de ellos salen por el otro lado, la transmitancia es 0.5, o del 50%. Si estos 50 fotones atraviesan, entonces, una cubeta idéntica, sólo saldrán 25, etc.

Generalmente se piensa que Lambert (1760) formuló la primera ecuación matemática sobre este efecto, aunque ahora parece que se le adelantó Bouguer en 1729. La expresión matemática es:

$$T = I/I_0 = e^{-kb} \quad (5)$$

Donde I_0 es la intensidad incidente, I es la intensidad transmitida, e es la base de los logaritmos naturales, k es una constante y b es el paso óptico.

La ley de Beer dice que la cantidad de luz absorbida es proporcional al número de moléculas absorbentes por las que pasa la luz.

Combinado las dos leyes se obtiene la ley Beer-Bouguer-Lambert:

$$T = I/I_0 = e^{-kbc} \quad (6)$$

Donde c es la concentración de las especies absorbentes (expresado en g/L o mg/L). Esta ecuación puede transformarse en una expresión lineal tomando el algoritmo y normalmente, se expresa de la siguiente manera:

$$A = -\log T = -\log(I/I_0) = \log(I_0/I) = \epsilon bc \quad (7)$$

Donde ϵ es la absorción molar o coeficiente de extinción. Esta expresión se conoce como la ley de Beer. Este coeficiente de extinción (ϵ) es característico de onda, disolvente y temperatura. En la práctica, el coeficiente de extinción medido también depende de las características del instrumento utilizado, por tal motivo no se utilizan valores predeterminados del coeficiente para análisis cuantitativos, en su lugar se construye una curva de calibración o curva de trabajo para la sustancia

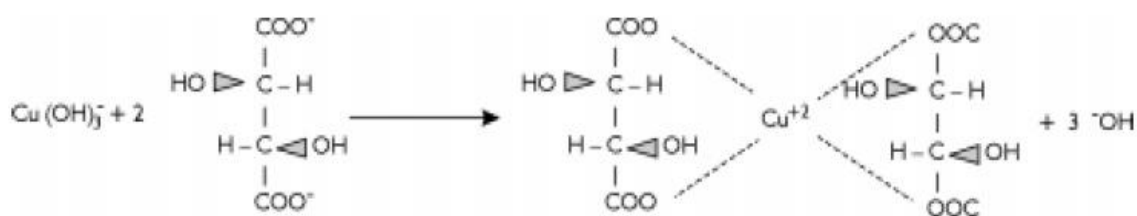
a analizar, utilizando disoluciones patrón con concentraciones conocidas del analito.

Para transiciones electrónicas, la diferencia de energía entre los estados fundamentales y excitados, es relativamente grande. Por tanto, a temperatura ambiente, es muy probable que todas las moléculas estén en estado fundamental. La absorción y vuelta al estado fundamental, son procesos rápidos y el equilibrio se alcanza muy rápidamente. Por consiguiente, la absorción de luz UV – visible es cuantitativamente muy exacta. La simple relación lineal entre la absorbancia y la concentración y la relativa facilidad de medida de la luz UV – visible, ha hecho de la espectroscopia UV – visible la base de miles de métodos analíticos cuantitativos (Owen, 2000).

2.4.3. MÉTODO DE SOMOGYI-NELSON.

2.4.3.1. Principio químico del componente A de Somogyi.

El carbonato de sodio con el agua tiene una reacción alcalina por efecto de la gran hidrólisis que experimenta. El tartrato de sodio y potasio en medio alcalino reacciona, con el $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, dando origen a un complejo cupro tartárico, intensamente azul y estable, no precipita por los álcalis.



Entonces se dispone de un complejo que contiene Cu^{+2} en medio alcalino, capaz de oxidar los aldehídos pero no las cetonas. Además, el bicarbonato de sodio, sólido blanco poco soluble en agua, cuya solución presenta reacción débilmente alcalina, se une con el carbonato de sodio para dar a una solución buffer que impide el cambio en la concentración de iones hidrogeno cuando se producen pequeñas cantidades de ácidos o bases en el medio, asegurando él mismo pH alcalino (González Blair & Castellano, Domínguez, 2003).

2.4.3.2. Principio químico del componente B de Somogyi.

El sulfato de sodio es un cuerpo blanco, cuya máxima solubilidad se presenta a los 33°C, y sus disoluciones saturadas en caliente ofrecen en frío el fenómeno de la sobresaturación: es este estado, cuando por agitación u otra causa cristalizan, lo hacen con siete moléculas de agua (González Blair & Castellano, Dominguez, 2003).

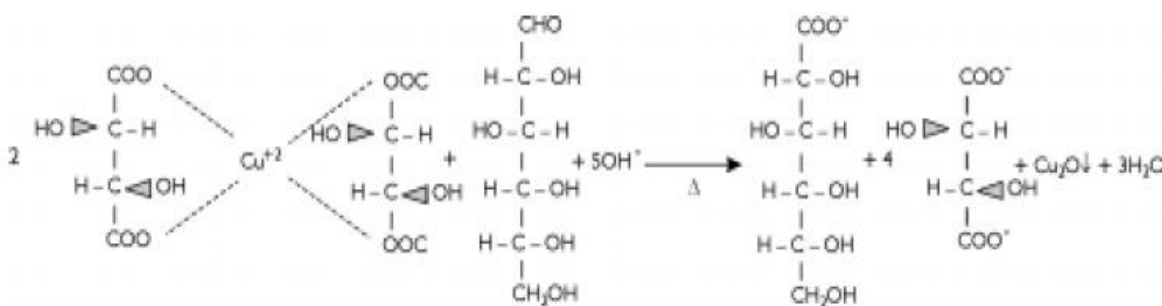
2.4.3.3. Principios químicos del reactivo de Nelson.

El molibdato de amonio en presencia de ácido sulfúrico y de Arsenato de sodio da origen al ácido molibdoarsénico, complejo de color amarillo (González Blair & Castellano, Dominguez, 2003).



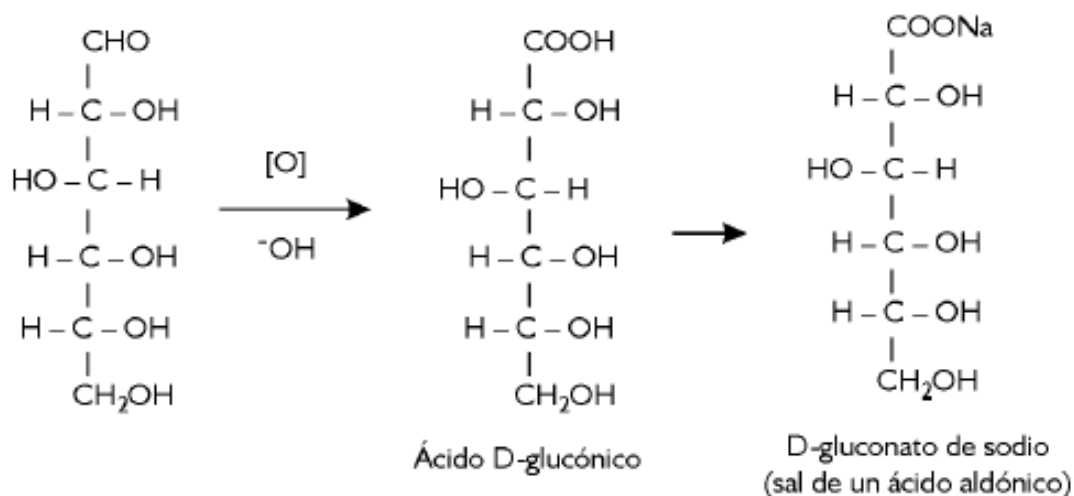
2.4.3.4. Análisis de la reacción con el reactivo de Somogyi.

Al añadir un azúcar reductor al reactivo de Somogyi y calentar, se produce un precipitado de cobre reducido bajo la forma de hidrato cuproso y óxido cuproso, que oscila entre los colores rojo y amarillo y se mantienen inalterado gracias a la presencia del sulfato de sodio utilizado para minimizar la entrada oxígeno atmosférico a la solución y evitar así la re-oxidación del óxido cuproso.



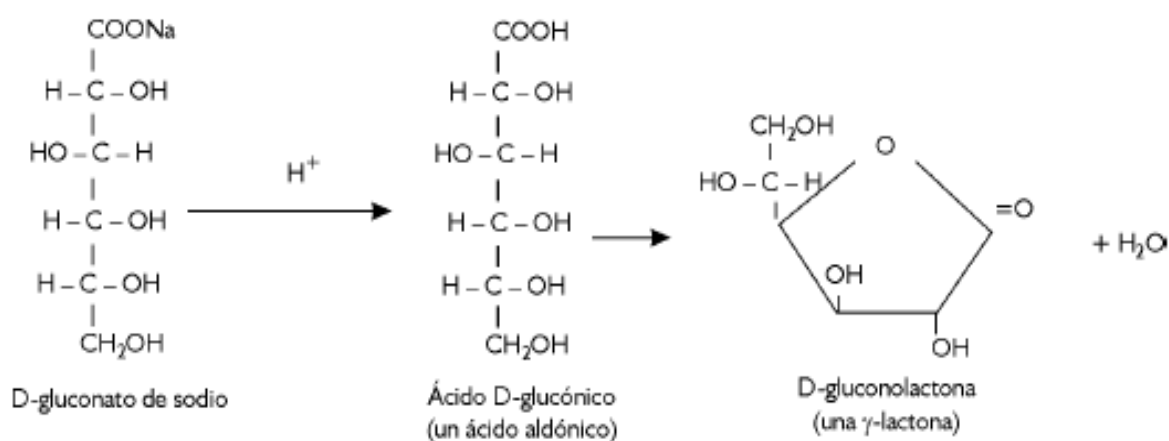
Así pues, la glucosa se oxida, sea por oxidación del C₁ (el carbono aldehídico) para producir un ácido aldónico, o por oxidación del carbón numerado con la cifra más alta (el carbono que lleva el alcohol primario) para producir un ácido aldurónico. El primero de ellos, el ácido D-glucónico, es estable en forma de sus

sales, ya que se lactoniza. Las lactonas obtenidas pueden ser γ o δ y frecuentemente se obtiene una mezcla de ambas. (González Blair & Castellano, Dominguez, 2003).

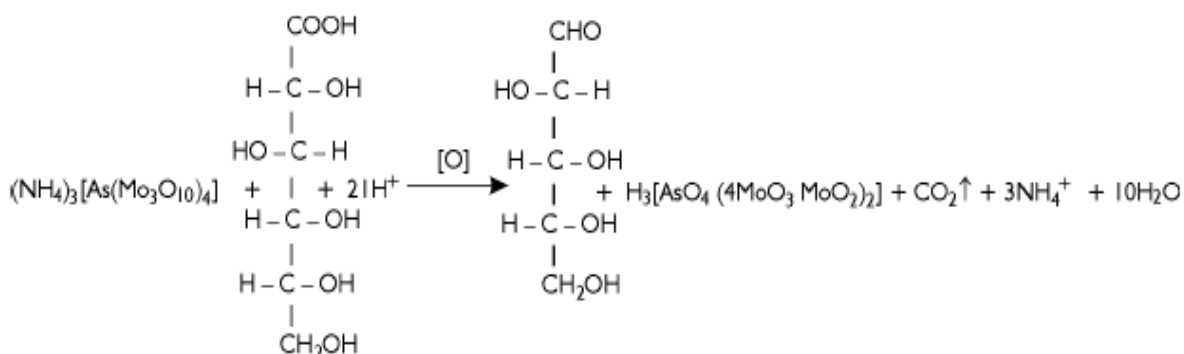


2.4.3.5. Análisis de la reacción con el reactivo de Nelson.

Al momento que los reactivos de Somogyi y Nelson reaccionan, inicia el consumo de agentes reductores tales como ácido ascórbico o ácidos carboxílicos derivados de las aldosas, mientras tanto el ácido sulfúrico se combina con el D-gluconato de sodio, para liberar el ácido D-glucónico que lactoniza en sus formas γ , δ (González Blair & Castellano, Dominguez, 2003).



Entonces, el molibdoarsénico de amonio reacciona con el ácido aldónico obtenido durante la oxidación del azúcar reductor con el reactivo de Somogyi, reduciendo el complejo amarillo a azul de molibdeno y oxidando el ácido a una aldosa con un átomo de carbono menos que el ácido aldónico inicial (González Blair & Castellano, Dominguez, 2003).



Complejo de color amarillo Ácido glucónico D-arabinosa Azul de molibdeno

Como la cantidad de azul de molibdeno formado y el porcentaje de sulfato de cobre que dejó de reaccionar en el reactivo de Somogyi son proporcionales a la concentración de azúcares reductores presentes en la muestra, la intensidad de color puede medirse con un espectrofotómetro, relacionando la absorbancia con la concentración de las azucares reductoras.

2.5. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.

La espectroscopia infrarroja ha llegado a ser una de las técnicas más importantes para la determinación de la estructura molecular. Al mismo tiempo, sus aplicaciones de tipo analítico la han convertido en una herramienta indispensable en el laboratorio químico.

Una molécula no es una estructura rígida, sino que, a la temperatura ordinaria, los átomos que la forman oscilan o vibran constantemente alrededor de sus posiciones de equilibrio. La amplitud de estas oscilaciones es muy pequeña, entre 0.01 y 0.1 Å, y su frecuencia de vibración es relativamente elevada, de 10^{12} a 10^{14} Hz. Esta frecuencia es de la misma magnitud que la de la radiación infrarroja, por



lo que cabe esperar que haya interacción de dicha radiación con las vibraciones atómicas de una molécula, llamadas corrientemente vibraciones moleculares. En efecto, al iluminar un conjunto de moléculas con radiación infrarroja de frecuencia apropiada, ocurre una absorción por parte de las moléculas de la energía de la radiación. El registro gráfico del porcentaje de la radiación absorbida (o transmitancia) por una muestra de sustancia, en función de la longitud de onda o del número de ondas de la radiación infrarroja incidente, es lo que se llama un espectro infrarrojo, íntimamente relacionado, con las vibraciones moleculares. La región del espectro en que aparece una absorción de radiación se llama banda de absorción; la frecuencia o número de ondas del pico de máxima absorción, llamada frecuencia de la banda, así como la intensidad o porcentaje de absorción, son datos de gran interés para el estudio de la estructura molecular de la sustancia absorbente (Morcillo , 1974).

Cuando se conocen los compuestos de una mezcla, puede hacerse el análisis cuantitativo midiendo la intensidad de absorción de ciertas bandas seleccionadas (una para cada componente), que suelen llamarse bandas clave. En general como bandas clave se eligen aquellas que sean muy intensa y no estén superpuestas con otras bandas de los demás componentes. En mezclas complejas, puede ser necesario llegar a un compromiso entre dos factores. A veces, suele ser preferible utilizar una banda relativamente débil, en vez de una más intensa que presente una parcial superposición con otras, puesto que, por adecuada selección de la célula o de la concentración de la muestra, puede conseguirse que el porcentaje de absorción de la banda clave esté entre límites convenientes (Morcillo , 1974).

2.6. ACIDEZ TITULABLE, pH Y GRADOS BRUX.

Acidez Titulable: Los ácidos orgánicos presentes en los alimentos influyen en el sabor, color y la estabilidad de los mismos. Los valores de acidez puede ser muy variables, los ácidos predominantes en frutas son: el cítrico (frutas tropicales), el málico (ej. Manzana), el tartárico (ej. Uvas y tamarindo) mientras que en los productos pesqueros, de aves y productos cárnicos son de acidez muy baja y el ácido predominante es el láctico. En el procedimiento usual para determinar la



concentración total de ácidos, se titula una alícuota de la solución problema con una solución estándar de álcali hasta el punto en el cual una cantidad equivalente de la base ha sido añadida. Este punto final puede detectarse mediante indicadores (cambio de color), electrométricamente, etc. (GenAsig, 2013).

El pH: se define como el logaritmo negativo de la concentración molar de los iones hidrógeno como indica la siguiente ecuación.

$$pH = -\log[H^+] \quad (8)$$

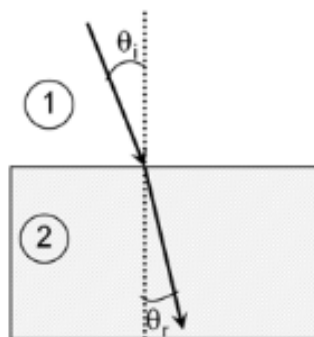
El pH presente en el alimento será el resultado de los sistemas amortiguadores naturales que predominen en el mismo. Los sistemas amortiguadores o buffers son mezclas de ácidos o bases débiles y sus sales. Su determinación y control es de gran importancia en las industrias de alimentos ya que mediante este parámetro se puede establecer un uso y control idóneo de microorganismos y enzimas, también es importante en la clarificación y estabilización de los jugos de frutas y de productos fermentados de frutas y cereales. Además, resulta particularmente importante en lo que se refiere a rigurosidad del tratamiento térmico (tiempo y temperatura de procesamiento) en general, la velocidad de destrucción térmica de las bacterias, principalmente las anaerobias formadoras de esporas, estas tienen un incremento considerable cuando aumenta la concentración de iones hidronio. Alimentos con valores de pH menores de 4.5 son considerados ácidos y con valores mayores, alimentos no ácidos. Para estos últimos la rigurosidad del procesamiento térmico deberá ser mayor (GenAsig, 2013).

El índice de refracción: Se ha observado que la velocidad de la luz no es la misma en todos los medios. La velocidad de la luz en el vacío es exactamente 299792458 metros por segundo, pero es inferior cuando la luz atraviesa otro medio. Para describir cómo de diferente es la velocidad de la luz en un cierto medio respecto a la velocidad en el vacío, se introduce el llamado índice de refracción n . (Pedrós & Mas, 2000)

$$n = \frac{c}{v} \quad (9)$$

Donde c es la velocidad de la luz en el vacío y v la velocidad de la luz en el medio en cuestión. Cuando la luz se acerca a un medio con diferente índice de refracción, parte de la luz se refleja y el resto pasa al segundo medio (se refracta). Existe una relación entre los ángulos de la luz y los índices de refracción de los medios, la llamada ley de Snell.

Ilustración 10. Grafico Ley de Snell



Fuente: (Pedrós & Mas, 2000)

$$n_1 \sin \theta_i = n_2 \sin \theta_r \dots \dots \dots (10)$$

Dónde: n_1 y n_2 son los índices de refracción de los medios; θ_i es el ángulo de incidencia; θ_r es el ángulo de refracción. Ambos ángulos se miden respecto a la recta perpendicular a la superficie de separación entre los medios (interfaz). La ecuación 11 es válida siempre que los medios sean isótropos, es decir uniforme en todas direcciones (Pedrós & Mas, 2000). El índice de refracción varía con la naturaleza del compuesto, temperatura, longitud de onda de la luz y la concentración del compuesto. Si las tres primeras variables se hacen constantes la concentración del compuesto se puede determinar midiendo el índice de refracción, de tal forma este índice se usa para determinar sólidos totales en disolución. El uso del índice de refracción para determinar concentración es preciso solamente para sacarosa pura u otras disoluciones puras, también se



utiliza para obtener concentraciones aproximadas de azúcares para productos líquidos en cuyo caso la solución debe ser clara (Nielsen, 1998).

2.7. MUESTREO.

Los métodos de muestreo de alimentos para el estudio de composición pueden ser: al azar, selectivos, muestreo controlado. Cuando un alimento es coleccionado específicamente para generar resultados para una base de datos de composición del alimento, es muy importante que las muestras sean representativas, tal como es consumido o está disponible por tal motivo se realizara un muestreo al azar ya que una muestra al azar es aquella en la cual todos los individuos tienen la misma posibilidad de ser incorporados al estudio. La muestra representativa es aquella resultante de plan de muestreo y se espere que refleje adecuadamente las propiedades de interés de la población madre (Araya , Garay, & Burlingame, 1997).

Se tendrá en el plan de muestreo los siguientes aspectos.

- Selección.
- Extracción
- Preservación.
- Transporte.

Además se debe tener en cuenta el lugar en donde se realizara el muestreo de esta manera se tiene las siguientes directrices para realizarlo:

- a. Para caracterizar el cacao de una región.

Se recoge una muestra de tantas fincas sea posible, en la zona (una por finca); todas las muestras deben pertenecer a la misma temporada de cultivo. Se mezclan todas las muestras de las fincas y se extrae una muestra representativa de esa mezcla. Se debe anotar la temporada y la fecha en la etiqueta.

- b. Para caracterizar cacao de una finca.



Se extrae sub muestras de todos los sacos de cacao de un lote de menos de una tonelada, o de uno cada tres sacos en lotes de más de una tonelada.

c. Muestreo de cacao para investigación.

Muestras sin fermentación: Recoja tres muestras separadas y páselas del recipiente de cosecha a bolsas plásticas, inmediatamente después de romper la mazorca. Divida el número total de recipientes en tres grupos; saque una pequeña cantidad de almendras de cada grupo y colóquela en bolsas apropiadas. Cada recipiente es de 18.9 litros (5 galones) (Stevensaon, Corven, & Villanueva, 1993).

d. Método de muestreo para cacao.

- Elaborar un plano o croquis de la huerta a muestrear.
- Señale en el plano áreas que presenten condiciones semejante de suelo (pendiente principalmente), edad de las plantas, sombreado.
- En cada área selecciona al azar el 5% del total de las plantas a muestrear (INIAP, 1999).

2.7.1. TIPOS DE MUESTREOS.

2.7.1.1. CUADRANTES.

Es una de las formas más comunes de muestreo de vegetación, estos hacen muestreos más homogéneos. Este método consiste en colocar un cuadrado sobre la vegetación, para realizar las determinaciones.

El tamaño del cuadrante dependerá de la forma de vida y de la densidad de los individuos. Para muestrear vegetación herbácea el tamaño del cuadrante puede ser 1mx1m, para muestrear bejucos o arbustos el tamaño puede ser de 2mx2m .para arboles (mayores a 10 cm de diámetro a nivel del pecho), los cuadrantes pueden ser de 5mx5m o 10mx10m. El tamaño del cuadrante dependerá de la densidad de las plantas a medirse (Fredericksen, 2000).



2.7.1.2. PUNTO CENTRO CUADRADO.

Es método usado para el muestreo de árboles. La ventaja de este método son la rapidez de muestreo, el poco equipo y mano de obra que requiere y, además, la flexibilidad de medición, puesto que no es necesario acondicionar el tamaño de la unidad muestral a las condiciones particulares de la vegetación (Matteuci y Colma, 1982). Este método está basado en la medida de cuatro puntos a partir de un centro. Específicamente, consiste en ubicar puntos a través de una línea (senda, picadas, líneas imaginarias). En esta línea, cada cierta distancia (50 o 10 m) o al azar se debe ubicar un punto a partir del cual se hará el muestreo. En este punto se cruzan dos líneas imaginarias, con las cuales se obtiene 4 cuadrantes, en cada cuadrante se debe ubicar el punto central, además en cada cuadrante se considerara únicamente 4 árboles (Fredericksen, 2000).

2.7.2. NÚMERO DE MUESTRAS.

En un estudio para determinar parámetros, se pretende hacer inferencias de valores poblacionales (media, proporciones) a partir de una muestra. Si se desea estimar una muestra, debe conocerse:

- a) El nivel de confianza o seguridad $(1-\alpha)$. El nivel de confianza prefijado da lugar a un coeficiente (Z_α) . Para un nivel de seguridad del 95% $\alpha=1.96$.
- b) La precisión que se desea en el estudio;
- c) Una idea del valor aproximado del parámetro que se quiere medir. Esta idea se puede obtener revisando literatura o mediante estudio pilotos previos. En caso de no tener dicha información se utilizara el valor de $p=0.5$ (Lwanga SK & Lemeshow S, 1991).

Fórmula para determinar el número de muestras.

$$n = \frac{N z_\alpha^2 p q}{d^2 (N - 1) + z_\alpha^2 p q} \quad (11)$$

N es el total de la población.

z_α^2 es 1.96^2 si la seguridad deseada es del 95%

p es la proporción (recomendada 50% o 0.5)

$$q = 1 - p$$

d es la precisión (31%)

2.8. MATRIZ DE PRIORIZACIÓN.

Esta herramienta se utiliza para priorizar actividades, temas, características de productos, en base a criterios de ponderación conocidos utilizando una combinación de las técnicas de diagrama de Árbol y diagrama matricial fundamentalmente, son herramientas utilizadas para toma de decisión (Vilar, 1997) .

Para la construcción de la matriz existen tres pasos básicos en el proceso de priorización:

- a) Establecer prioridades y asignar pesos a los distintos criterios (en porcentaje).
- b) Establecer prioridades entre los temas/opciones en base a cada criterio en particular.
- c) Establecer prioridad y seleccionar los mejores temas/opciones en base a todos los criterios.

Una vez establecido los tres criterios mencionados anteriormente, se juzga la importancia relativa de cada criterio en comparación con los otros criterios para ello se considera lo siguiente, una vez que se ha completado la lista de criterios, cada criterio debe ser valorado, asignado un peso y se seguirá el siguiente orden. Primero se transcribe la lista total de criterios en ambos lados de una matriz en L, lo siguiente será comparar la importancia relativa de cada criterio respecto al resto de criterios utilizando una escala predefinida ejemplo.

1=Igualdad en Importancia.

2=Más importante.

3=Significativamente más importante.



Lo siguiente será asignar un valor a cada casillero de la matriz realizando la siguiente pregunta. ¿Cómo de importante o que tan fácil de cumplir es este criterio?

Una vez que la importancia relativa ha sido establecida, multiplicaremos este valor por el peso asignado a cada uno de los criterios y se sumaran los valores obtenidos para cada opción y la que obtenga el mayor valor será la seleccionada (Vilar, 1997).

2.9. ESTADÍSTICA EN QUÍMICA ANALÍTICA.

Durante la realización de un análisis cuantitativo es muy importante tomar en cuenta todas las variables que pueden afectar nuestro resultado, dentro de estos están los factores provocados por los instrumentos utilizados y los errores provocados por quien maneja el material. En el reporte de cualquier análisis químico, es importante tomar en cuenta este tipo de errores, hacer un análisis de los resultados y así se podrá concluir sobre él.

La estadística es una colección de métodos para planificar y realizar experimentos, obtener datos y luego analizar, interpretar, y formular una conclusión basada en esos datos. Además la estadística se utiliza como tecnología al servicio de las ciencias donde la variabilidad y la incertidumbre forman parte de su naturaleza, la estadística es la ciencia de la sistematización, recolección, ordenación y presentación de los datos referentes a un fenómeno que presenta variabilidad o incertidumbre para su estudio metódico, con objeto de deducir las leyes que rigen esos fenómenos, y poder de esa forma hacer previsiones sobre los mismo, tomar decisiones u obtener conclusiones (Barnett, 1983).

2.9.1. ERRORES EN LOS ANÁLISIS QUÍMICOS.

Es imposible efectuar análisis químicos totalmente libres de errores o incertidumbre, la fiabilidad de un resultado se analiza de diferentes maneras, una de ellas es analizar patrones de composición conocida, se aplica pruebas estadísticas a los datos.



El error en ciencias e ingeniería tiene el siguiente concepto: es la medida del sesgo en el resultado de una medición, la incertidumbre es el intervalo o rango de los valores posibles de una medida. Incluye tanto errores sistemáticos como aleatorios, existe tres tipos de errores:

Errores groseros o accidentales: son tan importantes que no existe alternativa real que abandonar el experimento y empezar nuevamente.

Error Aleatorio: estos provocan que los resultados individuales difieran uno del otro de manera que caigan a ambos lados del valor medio, estos errores afectan la precisión de un experimento, este tipo de errores son los que comete el operador del instrumento utilizado.

Errores Sistemáticos: provocan que todos los resultados sean erróneos en el mismo sentido, son demasiado grandes, y se denominan también sesgo de medida, este tipo de error es responsabilidad del material empleado y de su origen y precisión de fabricación.

Los errores mencionados provocan modificaciones en un estudio tanto en la precisión y la exactitud. (Barnett, 1983)

2.9.2. DISTRIBUCIÓN T- STUDENT.

Esta prueba permite comparar las medias de dos grupos de datos y determinara si entre estos parámetros las diferencias son estadísticamente significativas.

En la prueba t, se procede a determinar el valor t de student calculado, obtenido de la experiencia analítica, y este valor posteriormente se comparan con el llamado valor crítico, este valor se obtiene de la tabla t-student para un determinado porcentaje de confiabilidad (normalmente se utiliza 95% de confianza, es decir α de 0.05). Si no existe diferencia significativa entre 2 grupos la t calculada deberá ser inferior a la t crítica. (Ramon, 2010)



2.9.3. TÉRMINOS IMPORTANTES.

Media, Media Aritmética y promedio (\bar{X}): son términos sinónimos. Es la medida de tendencia central más utilizada. Se obtiene dividiendo la suma de los valores de una serie por el número de medidas del conjunto.

Precisión: describe la reproducibilidad de los resultados y se puede definir como la concordancia que hay entre los valores numéricos de dos o más mediciones que se ha realizado de idéntica manera, esta sólo dependen de la distribución de los errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero ni con el valor especificado.

La desviación estándar (σ): es una medida de dispersión usada en estadística, que nos dice cuanto tiende a alejarse los valores puntuales del promedio en una distribución.

Exactitud: el término denota el grado de coincidencia del resultado de una medición con el valor verdadero o aceptado de la misma y se expresa en función del error. La exactitud implica una comparación con el valor verdadero o aceptado como tal (Barnett, 1983).

CAPITULO 3: MÉTODOS Y MATERIALES.

3.1. MÉTODOS.

3.1.1. PLAN DE MUESTREO.

Para determinar un plan de muestreo, en primer lugar se debe establecer el método y el tipo de muestreo que se va a realizar. Además del número de muestras para el estudio.

3.1.1.1. SELECCIÓN DEL MÉTODO DE MUESTREO.

VALORACIÓN	CALIFICACIÓN
1	Inconveniente
2	Regular
3	Bueno
4	Mejor

TIPO	PONDERACIÓN
REPRESENTATIVO	40%
COSTO	40%
MATERIALES	20%

Muestreo	REPRESENTATIVO	COSTO	MATERIALES
Azar	4	2	3
Selectivo	1	3	3
Controlado	2	3	3

Tabla 8. Matriz de ponderación para la selección del método de muestreo

TIPO	REPRESENTATIVO	COSTO	MATERIALES	TOTAL
Azar	1,6	0,8	0,6	3
Selectivo	0,4	1,2	0,6	2,2
Controlado	0,8	1,2	0,6	2,6

Del análisis mediante la matriz de priorización el método que se usara en el estudio será al Azar.

3.1.1.2. SELECCIÓN DEL TIPO DE MUESTREO.

VALORACIÓN	CALIFICACIÓN
1	Inconveniente
2	Regular
3	Bueno
4	Mejor

TIPO	PONDERACIÓN
HOMOGENEIDAD	50%
MATERIALES Y MANO DE OBRA	15%
TIEMPO	20%
FLEXIBILIDAD	15%

TIPO	HOMOGENEIDAD	MATERIALES Y MANO DE OBRA	TIEMPO	FLEXIBILIDAD
Método. CUADRANTES	4	2	3	3
Método. PUNTO CENTRO	2	3	4	4

Tabla 9. Matriz de ponderación para el tipo de muestreo.

TIPO	HOMOGENEIDAD	MATERIALES Y MANO DE OBRA	TIEMPO	FLEXIBILIDAD	TOTAL
MUESTREO CUADRANTES	2	0,3	0,6	0,45	3,35
MUESTREO PUNTO CENTRO	1	0,45	0,8	0,6	2,85

De la matriz de priorización se establece que el muestreo será por cuadrantes.

3.1.1.3. CALCULO DEL NUMERO DE MUESTRAS.

La **tabla 9** indica que el método de muestreo es por cuadrantes.

$N = \text{número total de cuadrantes.}$

$$N = \frac{\text{Área Total}}{\text{Área de cada cuadrante.}} \quad (12)$$

Se estableció que el cuadrante será de 10mx10m según el método de muestreo por cuadrantes. El área seleccionada para el estudio es la zona 6 la misma que tiene una área de 2702 Km² en la que se siembra el cacao CCN-51.

$$N = \frac{2702 \text{ Km}^2}{0.0001 \text{ Km}^2} = 27020000$$

CALCULO DE (n) mediante la fórmula 11.

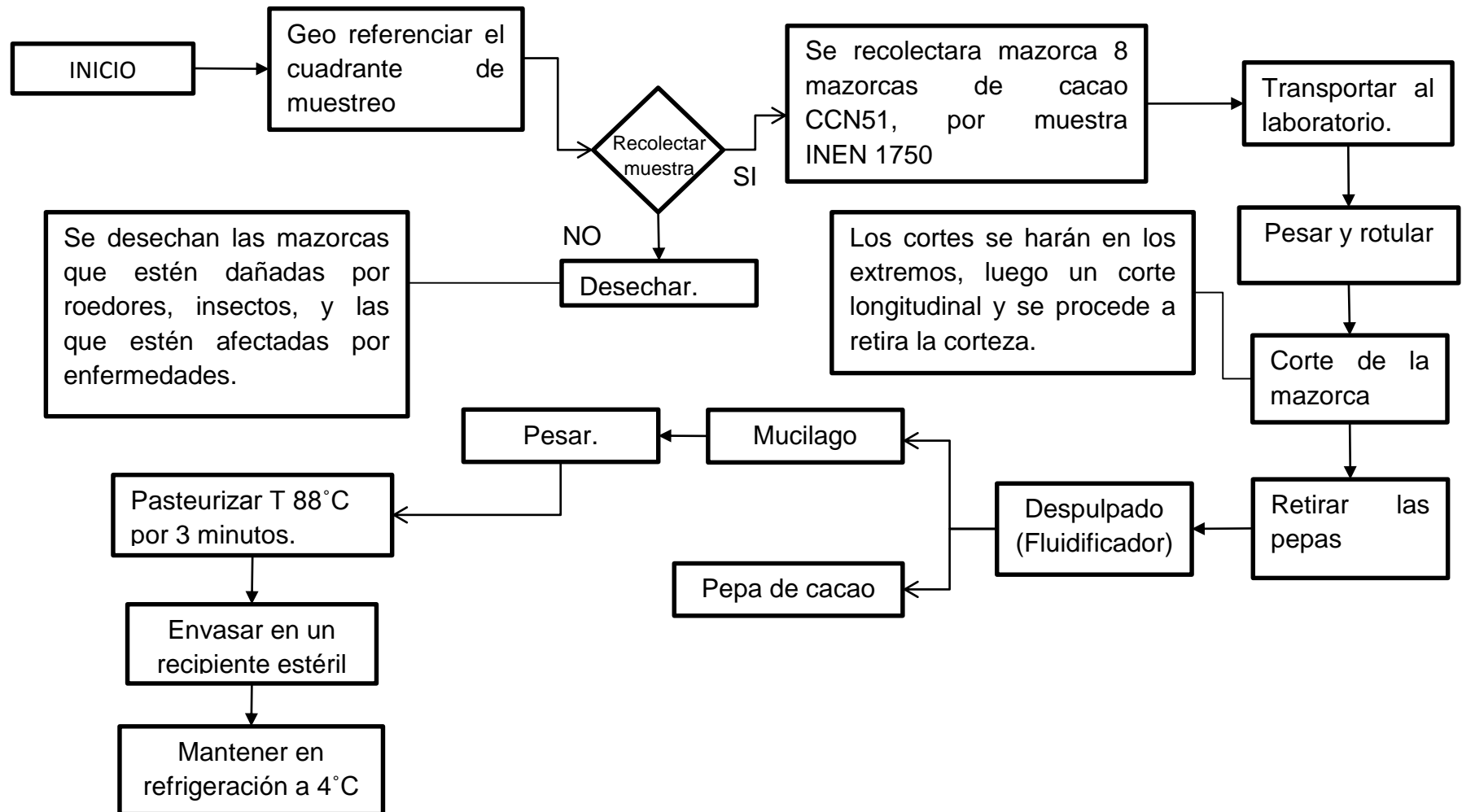
$$n = \frac{N z_{\alpha}^2 p q}{d^2 (N - 1) + z_{\alpha}^2 p q}$$

Parámetro	Valor.
N	27020000
p	0.5
q	0.5
Z	1.96
d	0.3

$n = 10 \text{ cuadrantes.}$



3.1.1.4. DIAGRAMA DEL PLAN DE MUESTREO.

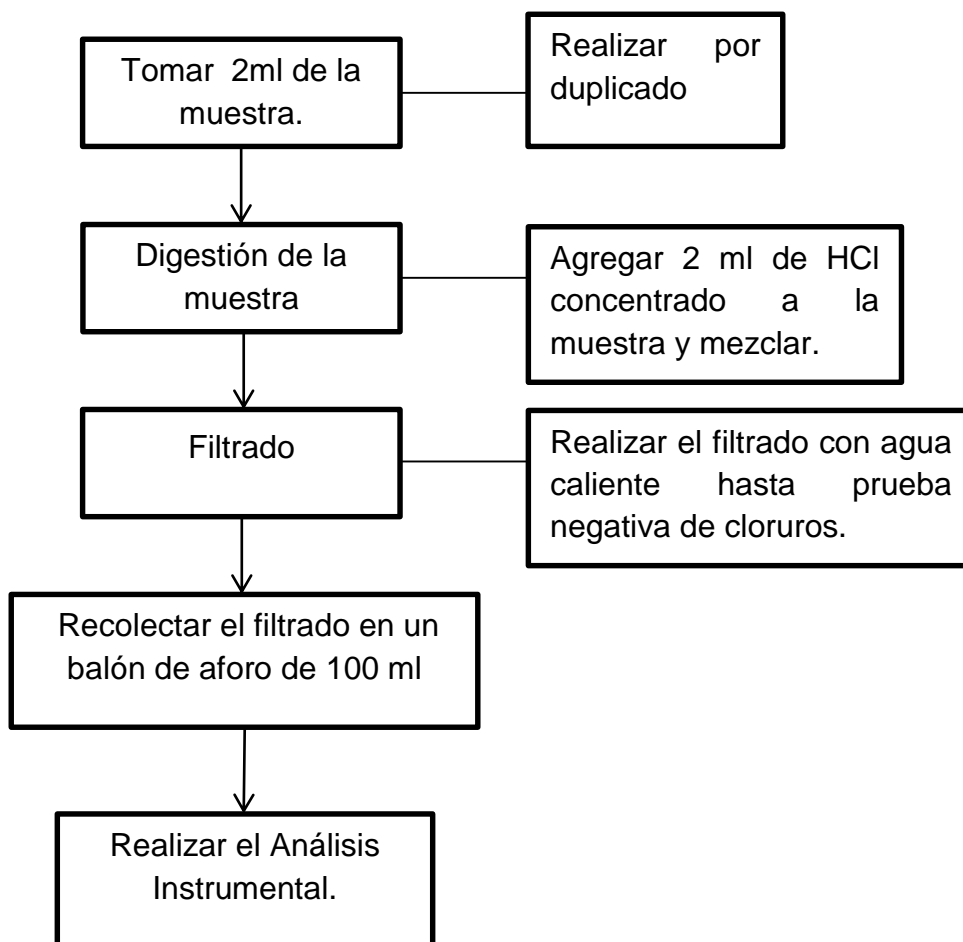


En la zona 6 se identificó dos lugares de alta producción de cacao CCN-51 donde se realizó el muestreo siendo estas: Camilo Ponce Enríquez en la provincia del Azuay y la Troncal en el Cañar. Las muestras tomadas en cada lugar está relacionado con la producción de cacao del mismo, la troncal tiene el 85% de producción de cacao en la zona 6 ahí se recolecto 8 muestras, y las restantes 2 se tomaron de Camilo Ponce Enríquez (CORPEI, 2013).

3.1.2. ANÁLISIS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

Con esta técnica analítica se analizara las concentraciones de Na, K y Ca de las muestras de mucilago de cacao. Como primer paso para el análisis de la muestra mediante espectrometría de absorción atómica se debe tratar a la muestra.

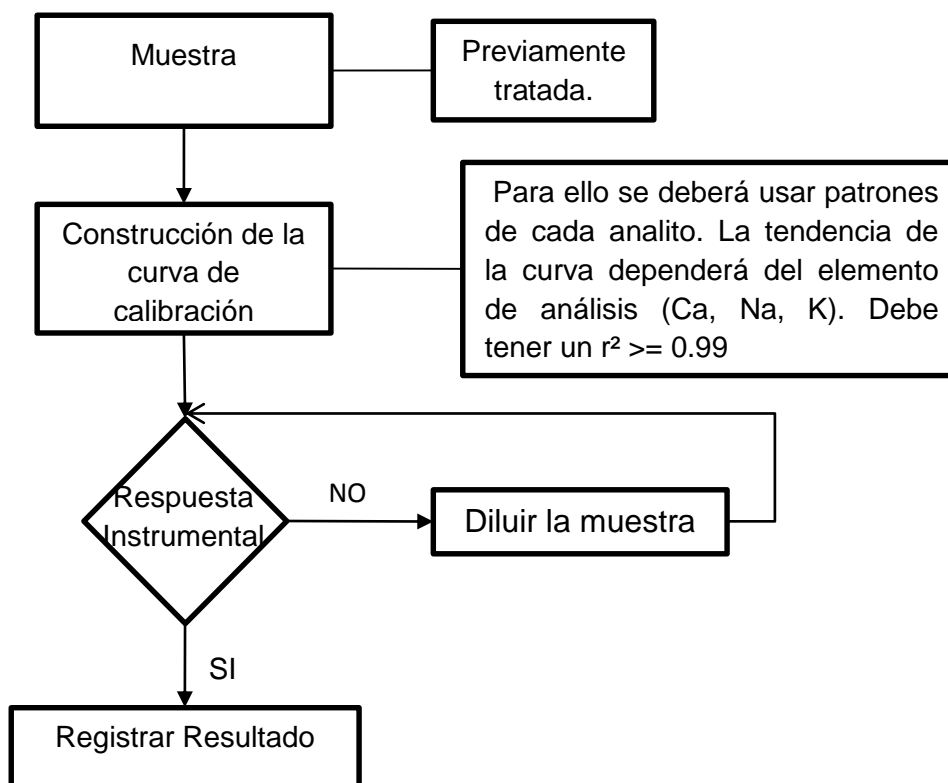
3.1.2.1. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA: CUANTIFICACIÓN DE SODIO, POTASIO Y CALCIO.



FUENTE: (Owen, 2000)

Una vez que la muestra este tratada es importante establecer cuál será el analito problema ya que de este dependerá la rejilla, longitud de onda, y la curva de calibración que se debe construir.

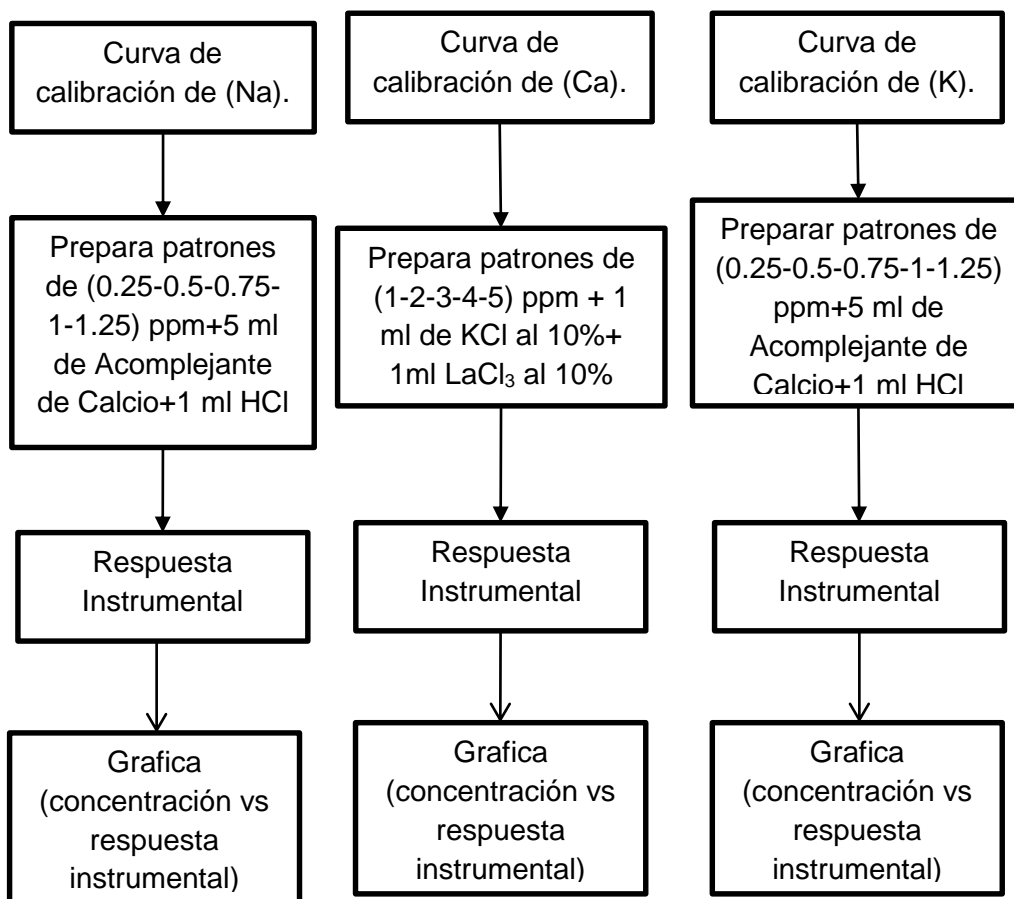
3.1.2.2. MARCHA ANALÍTICA: CUANTIFICACIÓN DE SODIO, POTASIO Y CALCIO.



FUENTE: (Perkin, 2000)

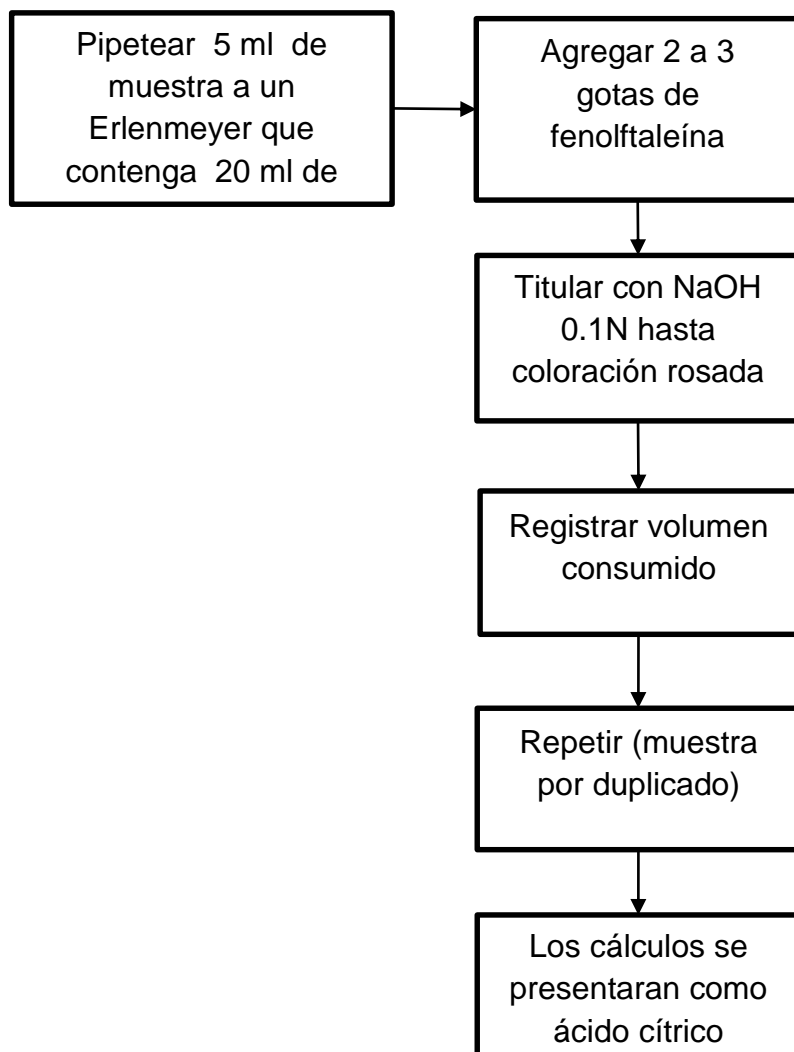
Una parte esencial en la marcha analítica es la curva de calibración, la misma que varía de acuerdo al analito problema, en este caso los analitos problema son Na, Ca, y K. Además, las diluciones que se establecieron para cada analito son las siguiente: en el caso del Ca la lectura es directa en la muestra tratada, mientras que para el K y Na se debe realizar una dilución, se tomó una alícuota de 5 ml de la disolución obtenida de la digestión de la muestra y se aforo a un volumen de 100 ml y en esta disolución se realizó la lectura.

3.1.2.3. CURVAS DE CALIBRACIÓN: CUANTIFICACIÓN DE SODIO POTASIO Y CALCIO.



FUENTE: (Perkin, 2000)

3.1.3. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE.



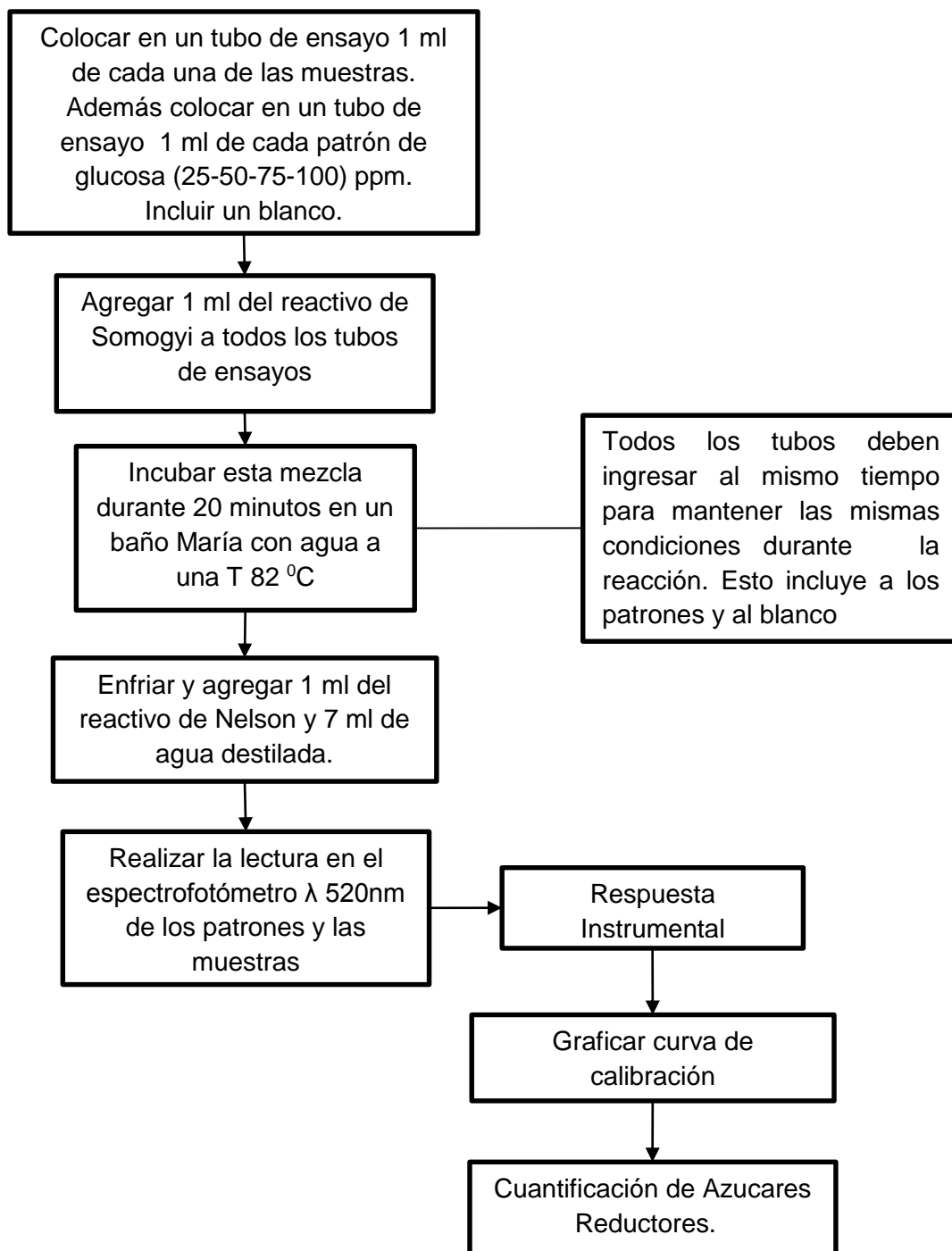
FUENTE: (GenAsig, 2013)

Para la determinación de acidez titulable tomamos como referencia la norma NTE INEN-ISO 750:2013, la misma que establece que se determine por método volumétrico

3.1.4. ANALISIS MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE.

Mediante esta técnica analítica se puede cuantificar la concentración de los azúcares reductores totales, presentes en la muestra de mucilago de cacao, el primer paso para desarrollar la técnica es el tratamiento de la muestra siendo este el mismo que se estableció para absorción atómica.

3.1.4.1. MARCHA ANALÍTICA: CUANTIFICACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES TOTALES MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRIA UV-VISBLE.



FUENTE: (González Blair & Castellano, Dominguez, 2003)

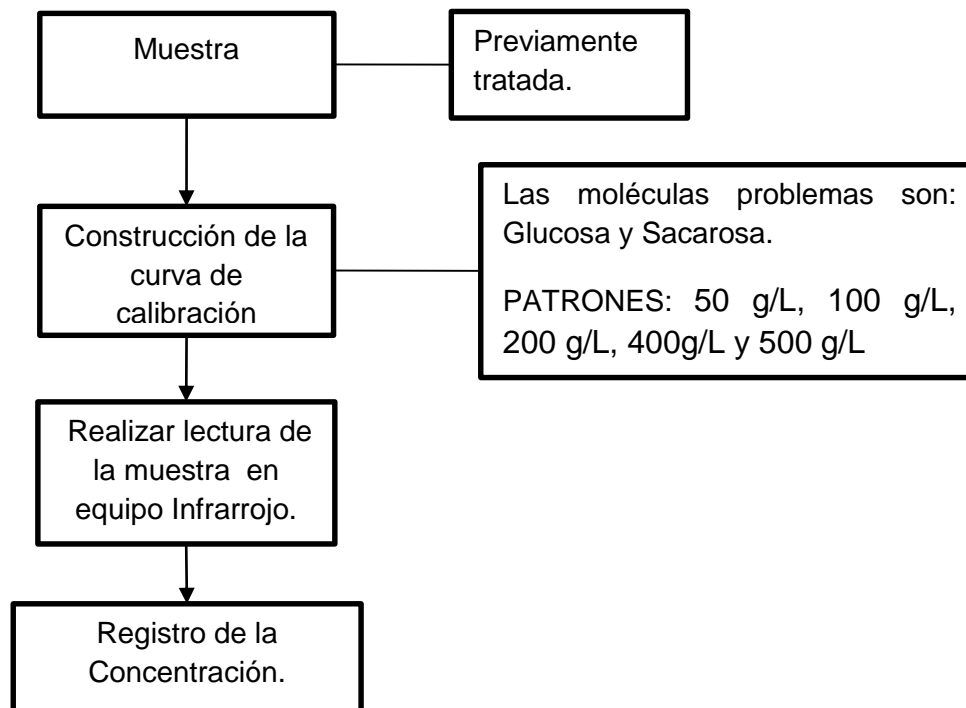


Para las muestras se realizó las siguientes diluciones, de la disolución origen se tomó 2 ml y se aforo a 100 ml de este se tomó 2 ml y se aforo a 100 ml, posterior a esto se tomó 10 ml y se aforo a 100 ml, de acuerdo al método de Somogyi y Nelson se toma 1 ml de la última disolución y se aforo a 10ml, un factor importante en el método es que tanto las muestras y los patrones deben ser tratados al mismo tiempo como se indica en el diagrama. Cabe indicar que las primeras lecturas deben ser las de los patrones posterior a estos se debe realizar la lectura de las muestras.

3.1.5. CUANTIFICACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES MEDIANTE ESPECTROSCOPIA FT-IR.

Este análisis se realizó con el objetivo de contrastar el resultado obtenido con el método de Somogyi y Nelson. Se realizó la cuantificación de sacarosa y glucosa para este análisis se consideró una única muestra, la misma que tuvo el mismo tratamiento que las otras muestras con una única variación a esta muestra no se realizó el ataque ácido.

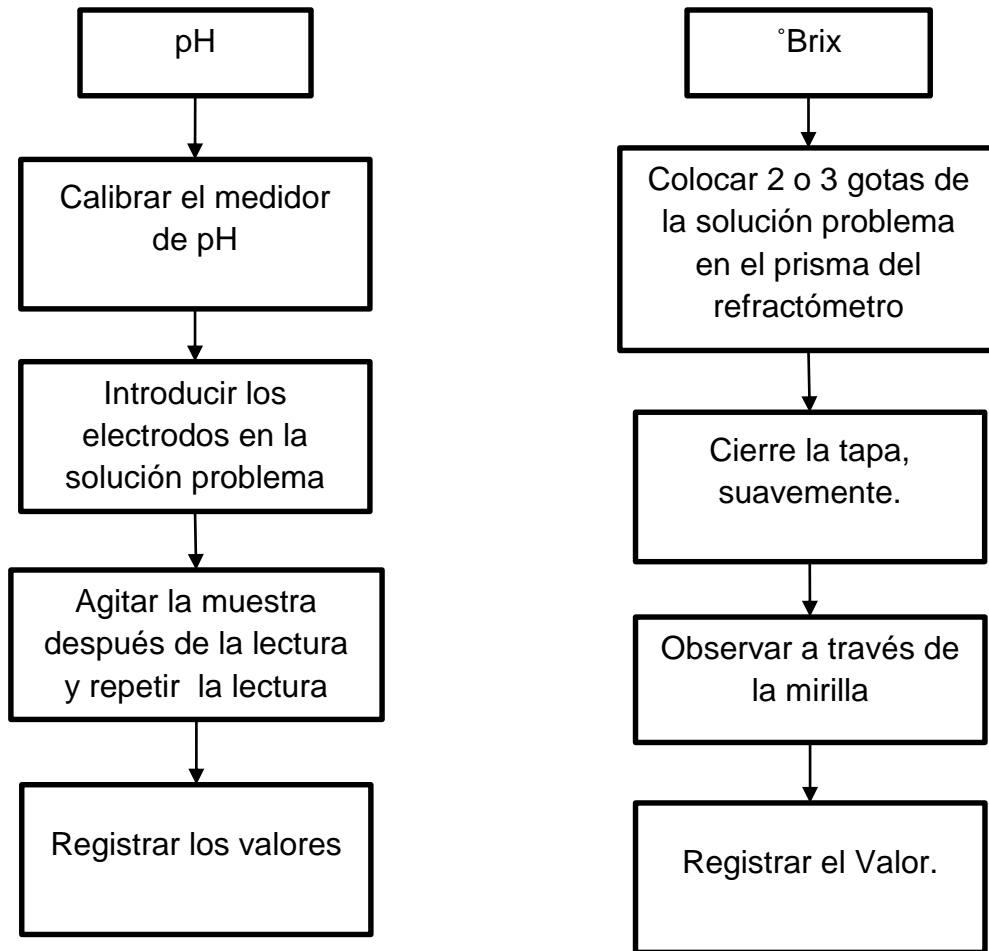
La marcha analítica: Cuantificación de Azúcares reductores totales mediante espectroscopía FT-IR.



FUENTE: (Morcillo , 1974)

Para desarrollar este método no es necesario realizar diluciones a la muestra, ya que la concentración de los patrones (sacarosa y glucosa) es de 50 g/L, 100 g/L, 200 g/L, 400g/L y 500 g/L.

3.1.6. DETERMINACIÓN DE pH y GRADOS Brix.



FUENTE: (GenAsig, 2013)

3.2. MATERIALES Y REACTIVOS.

3.2.1. Materiales: Extracción del Mucilago.

Tabla 10. Materiales Usados en la extracción del Mucilago

NOMBRE	CANTIDAD
Cuchillos	3
Recipientes plásticos	4
Termómetro	1
Cocina a gas	1
Balanza Analítica	1
Recipientes Estériles con capacidad de 100 ml	10
Fluidificador	1

De todos los equipos usados para la obtención del mucilago el más importante es el fluidificador, ya que este separa la pepa del mucilago los factores que se deben controlar es el diámetro de la boca de salida para que no exista trituración de la pepa, además del flujo de alimentación, se puede realizar una realimentación con las pepas si estas aun poseen una cantidad considerable de mucilago.

3.2.2. Materiales: Digestión de la muestra.

Tabla 11. Materiales usados en la digestión de la muestra

NOMBRE	CANTIDAD
Soporte para Embudos	3
Embudos de vidrio	6
Vaso de vidrio de 100 ml	6
Papel filtro Whatman #40	28
Balones de Aforo de 100 ml	20

3.2.3. Materiales: Cuantificación de sodio, potasio y calcio por absorción atómica.

Tabla 12. Materiales usados en Absorción Atómica

NOMBRE	CANTIDAD
Balones de Aforo de 100 ml	25
Balones de Aforo de 250 ml	2
Balones de Aforo de 500 ml	2

Varillas de Vidrio	2
Pera	1
Vasos de Vidrio de 100 ml	6
Pipetas de 10 ml	2
Pipetas de 2 ml	2
Picetas	2
Luna de reloj	2
Cocina eléctrica	1
Campana extractora de Vapores y Humos tóxicos	1
Balanza de Precisión (sartorius)	1
Espectrofotómetro de Absorción Atómica (Spectraa 55B)	1

3.2.4. Materiales: Cuantificación de Azúcares Reductores Totales

Espectrofotometría UV-Visible.

Tabla 13. Materiales usados en Espectrofotometría UV-Visible

NOMBRE	CANTIDAD
Balones de Aforo de 100 ml	25
Balones de Aforo de 250 ml	2
Varillas de Vidrio	2
Pera	1
Vasos de Vidrio de 1000 ml	2
Pipetas de 10 ml	2
Pipetas de 1 ml	2
Picetas	2
Cocina eléctrica	1
Termómetro	1
Campana extractora de Vapores y Humos tóxicos	1
Balanza de Precisión (sartorius)	1
Tubos de ensayo con tapa rosca	28
Espectrofotómetro (Spectronic 20D+)	1

3.2.5. Materiales: Cuantificación de pH, Acidez Titulable y grados Brix.

Tabla 14. Materiales usados en la determinación de: pH, °Brix, Acidez.

NOMBRE	CANTIDAD
pH metro (Radelkis electrochemical Instruments)	1

Refractómetro (0-30)	1
Vaso de vidrio 100 ml	4
Varilla de vidrio	2
Soporte Metálico	1
Bureta de 50 ml	1
Erlenmeyer de 100 ml	1
Pipeta de 10 ml	2

3.2.6. REACTIVOS.

Tabla 15. Reactivos: Absorción Atómica

Nombre	Símbolo	Cantidad	Uso
Ácido clorhídrico	HCl	200 ml	Digestión de la muestra
AComplejante de Calcio	-----	100 ml	Patrones y Muestras
Cloruro de Potasio	KCl	30 ml	Patrones y Muestras
Cloruro de Lantano	LaCl ₃	30 ml	Patrones y Muestras
Carbonato de Calcio	CaCO ₃	1.253 g	Patrones
Carbonato de Sodio	Na ₂ CO ₃	1.1532 g	Patrones
Cloruro de Potasio	KCl	0.958 g	Patrones

Tabla 16. Reactivos: Espectrofotometría UV-Visible

Nombre	Símbolo	Cantidad	Uso
Glucosa	C ₆ H ₁₂ O ₆	0.25 g	Patrones
Carbonato de Sodio	Na ₃ CO ₃	2.4 g	Reactivo de Somogyi
Tartrato de sodio y potasio.	KNaC ₄ H ₄ O ₆ .4H ₂ O	1.2 g	Reactivo de Somogyi
Sulfato de Cobre penta hidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.4 g	Reactivo de Somogyi
Bicarbonato de Sodio	NaHCO ₃	1.6 g	Reactivo de Somogyi
Sulfato de Sodio	Na ₂ SO ₄	1.8 g	Reactivo de Somogyi



Molibdato de Amonio	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5 g	Reactivo de Nelson
Arsenato mono ácido de sodio heptahidratado	$\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.12 g	Reactivo de Nelson

Tabla 17. Reactivos: Acidez Titulable

Nombre	Símbolo	Cantidad	Uso
Hidróxido de Sodio	NaOH	100 ml	Titulación
Agua destilada	H_2O	200 ml	Dilución de la muestra
Fenolftaleína		3 ml	Indicador

3.2.6.1. Acomplejante de Calcio.

Pesar 1.066 g de CO_3Li_2 y disolver en 9 ml de H_3PO_4 y aforar a 100 ml.

3.2.6.2. Reactivo de Somogyi.

Este se prepara en dos etapas.

Reactivo de Somogyi A.

Pesar 2.4 g de Na_2CO_3 y tartrato de Sodio y Potasio 1.2 g y disolver en 25 ml de agua destilada, a esta disolución agregar una solución de 0.4 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 10 ml de agua destilada y 1.6 g NaHCO_3 .

Reactivo de Somogyi B.

Disolver 1.8 g de Na_2SO_4 en 50 ml de agua a una temperatura de 80°C .

Finalmente, se debe mezclar el componente A y el B y aforar a 100 ml homogenizar y guardar, este reactivo puede durar por 6 meses (González Blair & Castellano, Dominguez, 2003).



3.2.6.3. Reactivo de Nelson.

Disolver en 80ml de agua caliente 60 °C, 5 g de Molibdato de Amonio y agregar 4.2 ml de H₂SO₄, además disolver 0.12 g de Arsenato de sodio en 5 ml de agua y agregar a la disolución anterior, se debe mezclar bien y aforar a 100 ml, el reactivo debe ser incubado por 48 horas a una temperatura de 37°C. Se debe almacenar en un recipiente ámbar y mantener en un lugar seco y oscuro. (González Blair & Castellano,Dominguez, 2003)

CAPITULO 4: RESULTADOS

4.1. EXTRACCIÓN DEL MUCILAGO.

Tabla 18. Datos de la Extracción: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRAS	PESO (g) Mazorcas.	PESO (g) (Pepa+Mucilago)	PESO (g) Mucilago
1	6800	1679.8	100.6
2	6800	1207.8	105.6
3	7300	1640.8	109.9
4	8000	1534.5	101.9
5	8200	2173.2	101.2
6	7000	1719.7	103.4
7	7900	1609.7	118.2
8	6600	1356.8	115.4
9	8200	1720.4	111.3
10	7000	1120.3	110,68

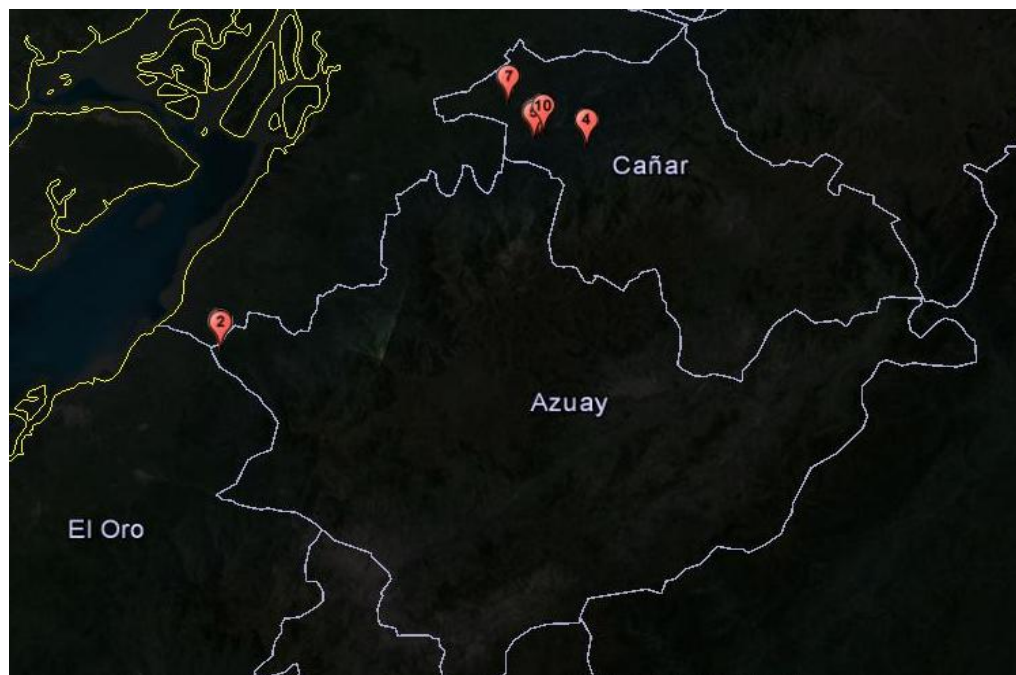
El valor peso promedio de la mazorca de cacao es 929.22 g.

En la **tabla 19** se expone los puntos geo referenciales donde se tomó cada muestra el sistema en el que están reportadas es el UTM.

Tabla 19. Puntos geo referenciales de muestras: Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRA	UTM	
1	639524	9661827
2	639630	9661324
3	685994	9723222
4	696607	9724085
5	685912	9722465
6	686725	9723407
7	678434	9728325
8	687554	9724469
9	687213	9724437
10	687240	9724461

Ilustración 11. Mapa con la ubicación de las Muestras



Fuente: Autor

4.2. CUANTIFICACIÓN DE SODIO, POTASIO Y CALCIO MEDIANTE ABSORCIÓN ATÓMICA.

4.2.1. DETERMINACIÓN DE SODIO Y POTASIO.

Tabla 20. Concentración de Na y K (incluye duplicados): mucilago de Cacao CCN-51
Zona: 6

MUESTRAS	CONCENTRACIÓN Na ppm (mg/L)	CONCENTRACIÓN K ppm (mg/L)
1A	167	495
1B	171	495
2A	115	499
2B	112	496
3A	221	449
3B	220	461
4A	213	535
4B	216	529
5A	178	508
5B	181	508

6A	152	461
6B	148	453
7A	193	389
7B	196	398
8A	115	489
8B	118	479
9A	145	421
9B	148	431
10A	113	385
10B	115	377

A continuación se presenta el valor medio para cada muestra, de la cuantificación del sodio y el potasio.

Tabla 21. Concentración de Na y K: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRA	CONCENTRACIÓN Na ppm(mg/L)	CONCENTRACIÓN K ppm (mg/L)
1	169	495
2	113.5	497.5
3	220.5	455
4	214.5	532
5	179.5	508
6	150	457
7	194.5	393.5
8	116.5	484
9	146.5	426
10	114	381

Tabla 22. Diferencia entre duplicados de la Cuantificación del Na y K.

MUESTRAS	% DIFERENCIA Na	% DIFERENCIA K
1	2.4	0.00
2	2.6	0.60
3	0.5	2.67
4	1.4	1.12
5	1.7	0.00

6	2,6	1.74
7	1.6	2.31
8	2.6	2.04
9	2.1	2.38
10	1.8	2.08

Curvas de calibración determinadas para el sodio y potasio.

Ilustración 12. Curva de Calibración del Sodio.

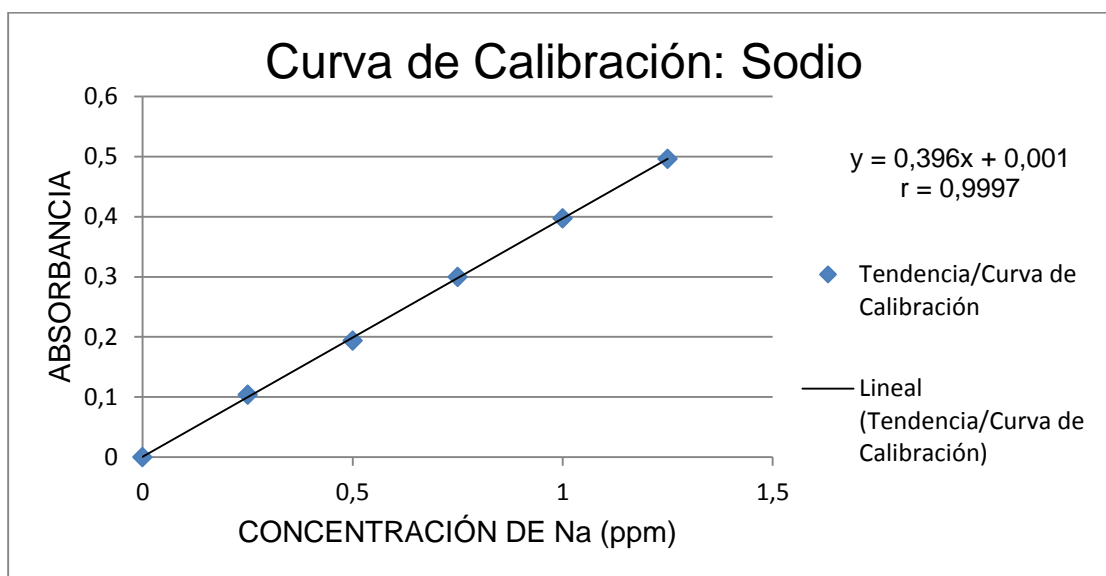


Ilustración 13. Curva de Calibración del Potasio.

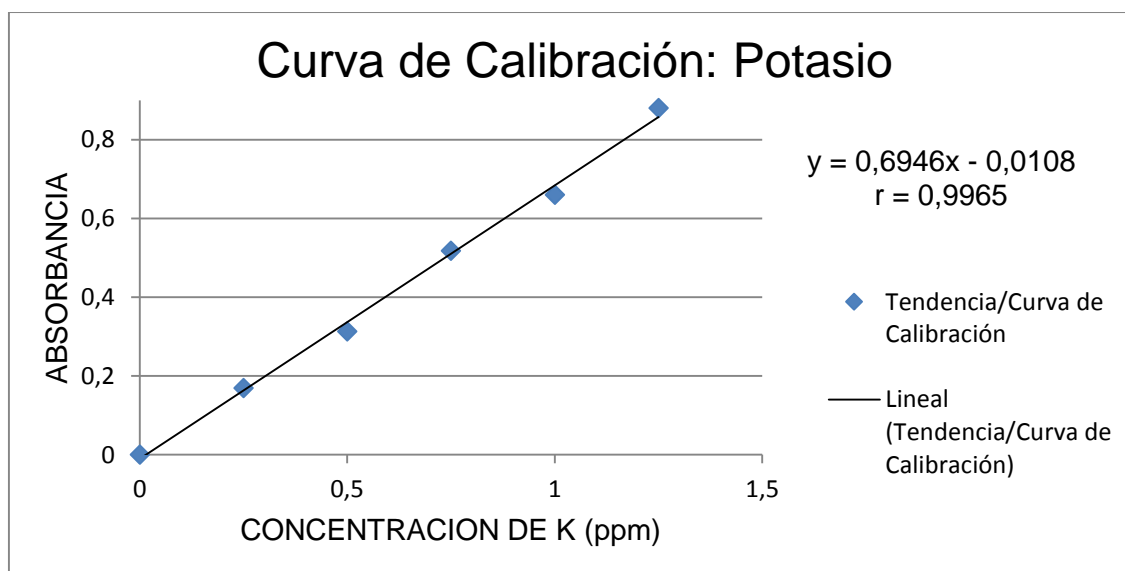


Tabla 23. Concentración media del Na y K: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

ANALITO	MEDIA (ppm)	DESVIACION ESTANDAR (ppm)
Sodio	161.85	40.41
Potasio	462.9	49.96

4.2.2. DETERMINACIÓN DE CALCIO (Ca).

Tabla 24. Concentración de Ca (incluye duplicados): mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRAS	CONCENTRACIÓN ppm (mg/L)
1A	163.5
1B	162
2A	156.25
2B	160.05
3A	210.05
3B	205.4
4A	149.05
4B	144.85
5A	171.05
5B	166.25
6A	110.55
6B	113.05
7A	207.7
7B	210.35
8A	159.05
8B	156.25
9A	207.3
9B	212.55
10A	156.9
10B	157.15

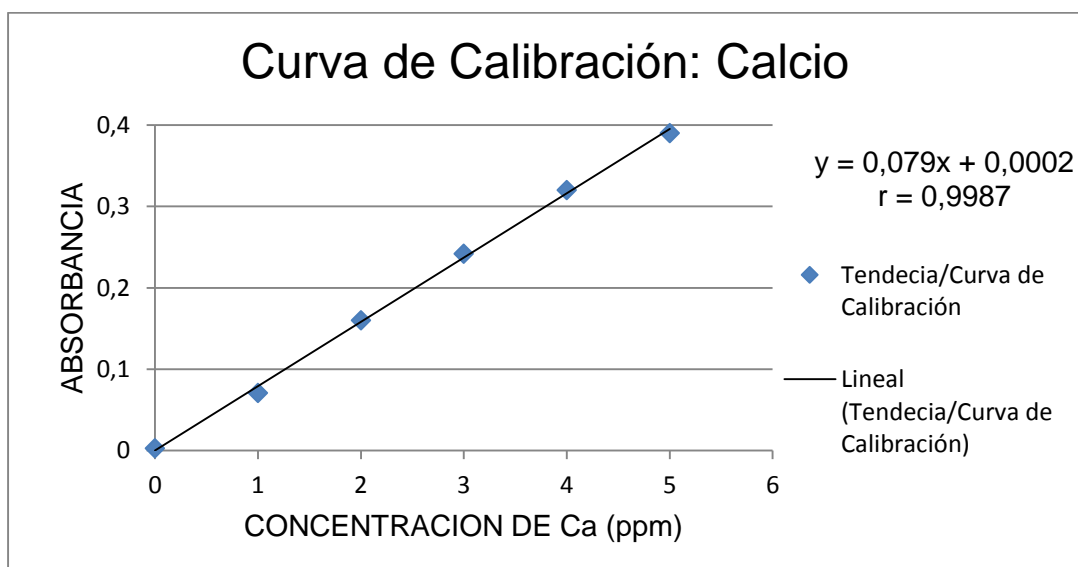
Tabla 25. Concentración de K: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRAS	Concentración ppm (mg/L)	% DIFERENCIA (Duplicado)
1	162.625	0.77
2	158.15	2.43

3	207.72	2.21
4	146.95	2.82
5	168.65	2.81
6	114.4	2.39
7	209.02	1.28
8	157.65	1.76
9	419.85	2.53
10	314.05	0.16

La concentración media es 169.21 ppm con una desviación estándar de 31.04 ppm.

Ilustración 14. Curva de Calibración del Calcio



4.3. DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES TOTALES MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE.

Tabla 26. Concentración de Azúcares reductores totales (incluye duplicados): mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRA	CONCENTRACIÓN (g/L)
1A	1241.78
1B	1274.67
2A	1620.07
2B	1669.41
3A	900.49
3B	929.28
4A	1250.00

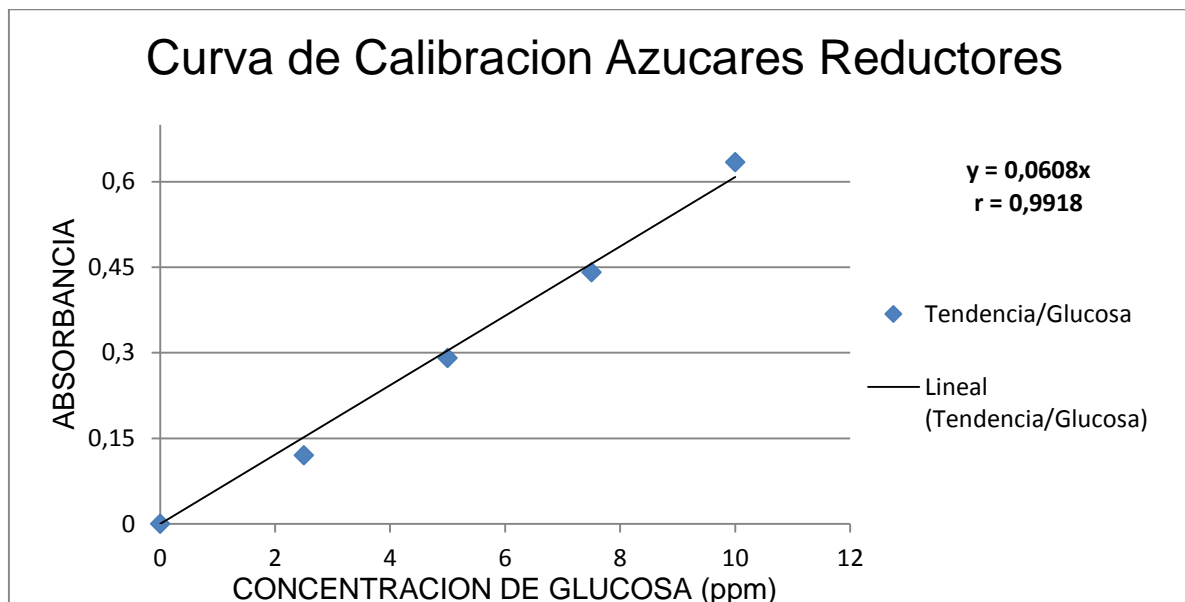
4B	1217.11
5A	1324.01
5B	1295.23
6A	1217.11
6B	1250.00
7A	1052.63
7B	1023.85
8A	1188.32
8B	1225.33
9A	1204.77
9B	1167.76
10A	1258.22
10B	1266.45

Tabla 27. Concentración de Azúcares Reductores totales: mucilago de Cacao CCN-51
Zona: 6

MUESTRAS	CONCENTRACIÓN (g/L)	% DIFERENCIA (duplicados)
1	1258.22	2.65
2	1644.74	3.05
3	914.88	3.20
4	1233.55	2.63
5	1309.62	2.17
6	1233.55	2.7
7	1038.24	2.73
8	1206.83	3.11
9	1186.27	3.07
10	1262.34	0.65

La concentración media de azúcares reductores totales es 1228.82 g/L, y la desviación es de 178.52 g/L.

Ilustración 15. Curva de Calibración: Azúcares Reductores



4.4. DETERMINACIÓN DE pH.

Tabla 28. pH de las muestras de mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRAS	pH
1	4
2	4.15
3	4.1
5	3.95
6	4.05
7	4.1
8	4.05
9	4.05
10	3.95

La media de pH es 4.05 y la desviación estándar es de 0.004.

4.5. DETERMINACIÓN DE Brix.

Tabla 29. °Brix: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRA	° Brix
1	16
2	16
3	16
4	16.5

5	18
6	18
7	17.5
8	18
9	17.5
10	18

La media de este parámetro es de 17.15 y su desviación estándar es de 0.86

4.6. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE.

Los resultados de este parámetro se expresaran en meq/L de ácido cítrico.

Tabla 30. Acidez Titulable: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

MUESTRA	Concentración $C_6H_8O_7$ meq/L	% DIFERENCIA (Duplicados)
1	285	3.4
2	232.5	2.1
3	217.5	2.3
4	235	4.2
5	252.5	2.0
6	272.5	1.8
7	222.5	2.2
8	252.5	2.0
9	237.5	2.1
10	245	0.0

La media para la acidez Titulable es de 245.25 meq/L con una desviación estándar de 21.19 meq/L.

4.7. DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES TOTALES MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRIA DE INFRARROJO.

Tabla 31. Resultado del Análisis en Infrarrojo

PARÁMETRO	CONCENTRACIÓN.
Glucosa	398 g/L
Sacarosa	800 g/L

Las concentración de Azucares reductores totales es de 1198 g/L.

4.7.1. CÁLCULO T STUDENT: AZUCARES REDUCTORES TOTALES

$$t_{cal} = \frac{x - \mu}{\left(\frac{S}{\sqrt{n}}\right)} = \frac{1228.82 - 1198}{\left(\frac{178.52}{\sqrt{10}}\right)} = 0.549$$

De la tabla del Anexo 5 se obtiene el valor de $t_{critico} = 1.833$ Siendo $t_{critico} > t_{cal}$ no existe diferencia significativa.

4.8. TABLA RESUMEN.

Tabla 32. Tabla resumen de parámetros: mucilago de Cacao CCN-51 Zona: 6

PARÁMETRO	CONCENTRACIÓN.
Total de Solidos Solubles (⁰ Brix)	17.15 ±0.86
pH	4.05±0.004
Acidez Titulable (meq/L).	245.25±21.19
Azucares Reductores Totales (g/L)	1228.82±178.52
Calcio (mg/L)	169.21±31.04
Sodio (mg/L)	161.85±40.41
Potasio (mg/L)	462.9±49.96

Tabla 33. Tabla Comparativa de Resultados.

PARAMETRO	MUESTRA	REFERENCIA	% DIFERENCIA
Total de Solidos Solubles (°Brix)	17.15	16.17	6.06
pH	4.05	3.75	8
Acidez Titulable (meq/L).	245.25	35.31	44.26
Azucares Reductores Totales (g/L)	1228.82	170	422.21
Calcio (mg/L)	169.21	71.5	1.33
Sodio (mg/L)	161.85	30.5	430.65
Potasio (mg/L)	462.9	950	51.27

CONCLUSIONES.

- Cumpliendo con el objetivo principal del estudio se presenta la tabla 31 de características del mucilago de cacao CCN-51 de la Zona: 6, la misma presenta la concentración de: Total de solidos solubles, pH, Acidez Titulable, Azucares reductoras totales, calcio, sodio y potasio, cada parámetro tiene su valor medio y desviación estándar.
- Se determina que 1 Kg de fruto de cacao CCN-51 se obtiene 14.61 g de mucilago de cacao, esto de acuerdo a la tabla 18, además dado que el peso medio de una mazorca de cacao es de: 929.22 g, entonces el mucilago comprende 1.45 % P/P del fruto. Además el método de separación de la pepa de cacao y el mucilago nos proporciona la siguiente relación por 1 Kg (Pepa + mucilago) se obtiene 68.40 g de mucilago de cacao.
- Las curvas de calibración presentan un excelente coeficiente de correlación, según (Perkin, 2000) el valor de este debe ser ≥ 0.99 , y puesto que los coeficientes obtenidos en el estudio son los siguientes: Calcio $r=0.998$, Sodio $r=0.999$, Potasio $r=0.996$; Azucares reductoras Totales $r=0.998$, indican una buena exactitud en los análisis realizados para sodio, potasio, calcio y azucares reductoras totales. Además la diferencia entre los duplicados en todos los casos es menor al 5% esto indica una buena precisión.
- Al realizar una comparación entre la información de la investigación de (Anvoh, Zoro Bi, & Gnakri, 2009) y la obtenida en el estudio, se establece que los valores de $^{\circ}\text{Brix}$, y Calcio, son muy similares teniendo una diferencia 6% y 1.33%, respectivamente, pero esto no sucede con el resto de parámetros el pH presenta una diferencia del 8%, la acidez Titulable obtenida es 1.44 veces mayor al valor de referencia, de igual manera el sodio es 5.3 veces mayor, en cuanto al valor de Azucares Reductoras Totales es 5.2 veces mayor al valor de referencia, por otra parte la concentración del Potasio es 2 veces menor al valor de referencia. Aunque los dos estudios se realizaron en la misma especie de cacao: Theobroma,



estos no son los mismo puesto que esta especie está constituida por tres complejos genéticos (criollo, Forastero, Amazónico) y el cacao al que se realizó el estudio es el CCN-51 y este es un clon adaptado a nuestro medio, y de origen ecuatoriano, de ahí se explica la diferencia que existe entre los parámetros expuestos, ya que genéticamente son diferentes.

- De los resultados obtenidos se establece que el mucilago es muy ácido, esta acidez se debe a un pH muy bajo de 4.05 y una alta acidez titulable de 245 meq/L, estos dos parámetros indican la presencia de ácidos orgánicos tales como el cítrico, acético y láctico de estos el que predomina es el Ácido cítrico (GenAsig, 2013), además esta acidez ayuda a preservar el mucilago de cacao del ataque de bacterias contaminantes.
- El valor de los Azúcares Reductores Totales obtenido es mayor al de referencia, la concentración de estos es de 1228.82 ± 178.52 g/L, por lo que el mucilago de cacao es una excelente fuente de azúcares, además el mucilago está constituido por azúcares simples (Anvoh, Zoro Bi, & Gnakri, 2009) y estas pueden ser fermentadas directamente por levaduras, y siendo el mucilago un desperdicio de la industria del cacao, entonces este podría ser usado como materia prima para la obtención de bioetanol o ser considerado dentro de una formulación de un alimento.



RECOMENDACIONES.

- Para la recolección de muestras es esencial, que en lo posible las muestras presenten el mismo estado de madurez para mantener uniformidad en las muestras de mucilago.
- Al realizar un estudio con el mucilago de cacao, las muestras no deben estar en estado avanzado de madurez, ya que la cantidad de mucilago se reduce y no se obtiene una cantidad considerable.
- Cuando se use el método Somogyi y Nelson cuando se agrega el reactivo de Nelson y agitar este desprenderá vapores tóxicos por lo que es necesario realizarlo en una campana extractora y usar guantes.
- Para realizar un análisis en el que se deba tomar un volumen de muestra de mucilago de cacao, esta debe ser filtrada para facilitar el trabajo ya que cada muestra es una mezcla solido líquido.
- Cuando se realicen diluciones de la muestra será una buena opción que todas las diluciones lo realice un solo analista, esto para evitar incrementar el error en el análisis, de igual manera considerar cuando se preparen los patrones. Aunque la mejor opción para evitar la preparación de patrones será trabajar con patrones estandarización y con su debida trazabilidad.



BIBLIOGRAFIA

- Agnelli, h. (2010). Caracterización Aleatoria del valor p y sus implicancias para la inferencia. *Universidad Nacional de Rio Cuarto*.
- AmericaEconomía. (28 de Diciembre de 2014). Ecuador, entre los cinco mayores productores de cacao del mundo.
- ANECACAO. (2015). *Anecacao*. Recuperado el 30 de JULIO de 2015, de <http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/cacaoccn51.html>
- Anvoh, K., Zoro Bi, A., & Gnakri, D. (2009). Production and Characterizacion of Juice from Mucilage of Cocoa Beans and its Transformation into Mermalade. *Pakistan Journal of Nutrition*, 129-133.
- Araya , H., Garay, R., & Burlingame, B. (1997). *Producción y Manejo de Datos de Composicion Química de Alimentos*. FAO.
- Bainville, S. (2005). *Flacsoandes*. Recuperado el 9 de Agosto de 2015, de <http://www.flacsoandes.edu.ec/biblio/catalog/resGet.php?resId=23364>
- Banco Central del Ecuador. (2015). *Banco Central del Ecuador*. Recuperado el 30 de JULIO de 2015, de <http://www.bce.fin.ec/>
- Barnett, R. (1983). *Estadística en el Laboratorio Clínico*. Barcelona: Revesté, s.a.
- Castro, R. (2000). *Principios Básicos de Espectroscopía*. MÉXICO: UACH.
- Clark, M. (2004). Los valores P y los intervalos de confianza. *Public Health*, 293-296.
- CORPEI. (2013). *PROECUADOR*. Recuperado el 30 de JULIO de 2015, de <http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2011/11/PROEC-AS2011-CACAO.pdf>
- El Agro. (2015). El cacao en la economía del Ecuador. *EL Agro*, 2-11.
- ESIN Consultoras S.A. (2014). *Atlas Bioenergetico del Ecuador*. Quito.
- Fredericksen, T. (2000). *Manual Básico de Muestreo y Análisis en ecología vegetal*. La Paz: Santa Cruz de la Sierra.
- GenAsig. (12 de junio de 2013). *Determinación de acidez total titulable y pH, preparacion de soluciones amortiguadoras*. Recuperado el 01 de marzo de 2016, de GenAsig: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/mmedina/archivos/Practica10%20acidez%20titulable.pdf>



- González Blair, G., & Castellano, Dominguez, Ó. (2003). Alternativas de modificación del método de Somogyi - Nelson.... *Ingeniería e Investigación*, 5-17.
- INIAP. (1999). *Manual de Cultivo del Ecuador*. Quito: INIAP archivos.
- Kalvatchev, Z., Garzaro, D., & Guerra, F. (1998). Theobroma Cacao: Un nuevo enfoque para nutrición y salud. *Agroalimenta*, 23-25.
- Lwanga SK, & Lemeshow S. (1991). *Sample size determination in health studies. A practical manual*. Geneva: World Health Organisation.
- Morcillo, J. (1974). *Espectroscopia Infrarroja*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Nielsen, S. (1998). *Food Analysis Second Edition*. Maryland: An Aspen Publication.
- Nigam, A., & Ayyagari, A. (2008). *Lab Manual in Biochemistry, Immunology and Biotechnology*. New York: Tata McGraw-Hill.
- Owen, T. (2000). *Fundamentos de la espectroscopía UV - visible moderna*. Berlín: Agilent Technologies.
- Paredes, N. (2009). *Manual de cultivo de cacao para la amazonia ecuatoriana*. Amazonia: Instituto Nacional Autonomo de Investigaciones Agropecuarias Estación Experimental Central de la Amazonía DENAREF.
- Pedrós, R., & Mas, D. (4 de Abril de 2000). *Coleccion de demostraciones de fisica*. Recuperado el 1 de Marzo de 2016, de <http://www.uv.es/piefisic/w3demos/castellano/catalogo/demos/demo67/demo67.pdf>
- Perkin, E. (2000). *HandBook of Chemistry*. McGraw-Hill.
- Ramon, E. (2010). La Distribucion t student. *UNAM*, 22-26.
- Secretaria Nacional de Planificacion y Desarrollo. (10 de Julio de 2013). www.planificacion.gob.ec. Obtenido de <http://www.planificacion.gob.ec/zonas-districtos-y-circuitos/>
- Skoog, A., West, D., & Holler, J. (2001). *Fundamentos de Quimica Analitica*. Barcelona: Reverté S.A.
- Stevensaon, C., Corven, J., & Villanueva, G. (1993). *Manual para Analisis de Cacao en Laboratorio*. San José: Misceláneas.
- Vilar, J. (1997). *Las 7 Nuevas Herramientas para la mejora de la Calidad*. Florida: FC Editorial.

ANEXOS.**Anexo 1. NORMA INEN 1750 (TAMAÑO DE MUESTRA)**

Determinación del tamaño de la muestra, para ello se considera la norma INEN 1750, 1994-09 Determinación del tamaño de muestra para producto a granel.

Tabla 34. Tamaño de la muestra.

Masa de lote (Kg) o número total de unidades, paquete o atados.	Masa total de muestra (kg) o número total de unidades, paquetes o atados que debe extraerse
Hasta 200	10
201 500	20
501 1000	30
1001 5000	60
Mayores de 5001	100 mínimo

Fuente: INEN 1750, 1994-09

Anexo 2. CÁLCULOS REALIZADOS: CUANTIFICACIÓN DE SODIO Y POTASIO.

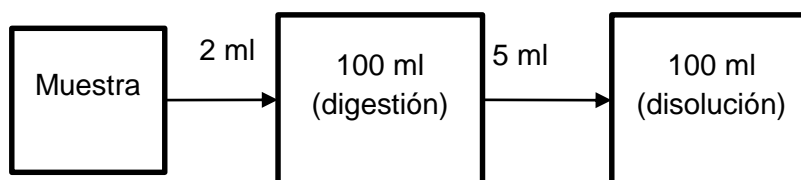
Tabla 35. Respuesta del Equipo de Absorción Atómica: Na y K (ppm)

MUESTRAS	Na ppm		MUESTRAS	K ppm
1A	0.167		1A	0.495
1B	0.171		1B	0.495
2A	0.115		2A	0.499
2B	0.112		2B	0.496
3A	0.221		3A	0.449
3B	0.22		3B	0.461
4A	0.213		4A	0.535
4B	0.216		4B	0.529
5A	0.178		5A	0.508
5B	0.181		5B	0.508
6A	0.152		6A	0.461
6B	0.148		6B	0.453
7A	0.193		7A	0.389
7B	0.196		7B	0.398
8A	0.115		8A	0.489
8B	0.118		8B	0.479

9A	0.145		9A	0.421
9B	0.148		9B	0.431
10A	0.113		10A	0.385
10B	0.115		10B	0.377

La tabla 32 expone los resultados obtenidos directamente del equipo de absorción para el caso del Sodio (Na) y del Potasio (K), se debe realizar operaciones matemáticas que relacionen las diluciones efectuadas para establecer un resultado real de la muestra, los cálculos que se efectuaron son los siguientes.

Se tomara el dato de una lectura con el fin de explicar: 9A = 0.145 ppm, además el diagrama de las diluciones realizadas es el siguiente.



$$x = \frac{0.145 \mu g}{100 ml} \times 1 ml$$

$$x = \frac{14.5 \mu g}{100 ml} \times 5 ml$$

$$x = \frac{290 \mu g}{1 ml} \times 2 ml$$

De los cálculos que se realizó se concluye que el resultado para la muestra 9A es de 145 ppm de Sodio Na. De igual manera se calcula para el resto de muestras obteniendo la siguiente tabla.

Tabla 36. Cálculos para la determinación de Sodio en Absorción Atómica

MUESTRAS	Na ppm	100 ml	5 ml	ppm muestra
1A	0.167	16.7	334	167
1B	0.171	17.1	342	171
2A	0.115	11.5	230	115
2B	0.112	11.2	224	112

3A	0.221	22.1	442	221
3B	0.22	22	440	220
4A	0.213	21.3	426	213
4B	0.216	21.6	432	216
5A	0.178	17.8	356	178
5B	0.181	18.1	362	181
6A	0.152	15.2	304	152
6B	0.148	14.8	296	148
7A	0.193	19.3	386	193
7B	0.196	19.6	392	196
8A	0.115	11.5	230	115
8B	0.118	11.8	236	118
9A	0.145	14.5	290	145
9B	0.148	14.8	296	148
10A	0.113	11.3	226	113
10B	0,115	11,5	230	115

De igual manera se realizó para el Potasio puesto que se realizaron las mismas diluciones para su cuantificación, la siguiente tabla contiene los resultados de los cálculos efectuados para el Potasio.

Tabla 37. Cálculos para determinar Potasio: Absorción Atómica.

MUESTRAS	100 ml	5 ml	ppm muestra
1A	49.5	990	495
1B	49.5	990	495
2A	49.9	998	499
2B	49.6	992	496
3A	44.9	898	449
3B	46.1	922	461
4A	53.5	1070	535
4B	52.9	1058	529
5A	50.8	1016	508
5B	50.8	1016	508
6A	46.1	922	461
6B	45.3	906	453
7A	38.9	778	389
7B	39.8	796	398
8A	48.9	978	489

8B	47.9	958	479
9A	42.1	842	421
9B	43.1	862	431
10A	38.5	770	385
10B	37.7	754	377

Anexo 3. CALCULOS REALIZADOS: CUANTIFICACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES TOTALES.

Las respuestas instrumentales obtenidas fueron las siguientes.

Tabla 38. Respuesta Instrumental: Espectrofotometría UV-Visible

Muestra	Respuesta Instrumental (ABS)
1A	0.302
1B	0.31
2A	0.394
2B	0.406
3A	0.219
3B	0.226
4A	0.304
4B	0.296
5A	0.322
5B	0.315
6A	0.296
6B	0.304
7A	0.256
7B	0.249
8A	0.289
8B	0.298
9A	0.293
9B	0.284
10A	0.306
10B	0.308

De la curva de calibración se obtiene los resultados de cada muestra en términos de concentración, para establecer los valores se utiliza la ecuación de la curva de calibración.

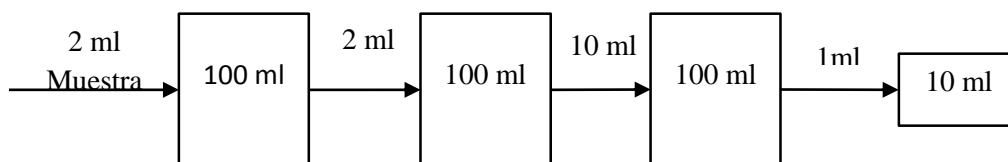
$$x = \frac{y}{0.0608}$$

De esta manera se establece los siguientes resultados:

Tabla 39. Concentración Obtenida de la Curva de Calibración Espectrofotometría UV-Visible

Muestras	Concentración ppm
1A	5.07
1B	5.20
2A	6.52
2B	6.71
3A	3.77
3B	3.88
4A	5.10
4B	4.98
5A	5.39
5B	5.28
6A	4.98
6B	5.10
7A	4.35
7B	4.24
8A	4.87
8B	5.01
9A	4.93
9B	4.79
10A	5.14
10B	5.17

Para establecer la concentracion de cada muestra se considera las diluciones que se realizo en el siguiente grafico se exponen las diluciones, las mismas que se realizarón con agua.



Mediante estas diluciones se establecen las relaciones matematicas, con el fin de exponer los calculos realizados se toma el valor de la muestra 10B y se realiza los calculos.

$$x = \frac{5.17 \mu g}{51.7 \mu g} \cdot \frac{1 ml}{10 ml}$$

$$x = \frac{51.7 \mu g}{5170 \mu g} \cdot \frac{1 ml}{100 ml}$$

$$x = \frac{5170 \mu g}{51700 \mu g} \cdot \frac{10 ml}{100 ml}$$

$$x = \frac{51700 \mu g}{2585000 \mu g} \cdot \frac{2 ml}{100 ml}$$

$$x = \frac{2.585 g}{1292.5 g} \cdot \frac{2 ml Muestra}{1000 ml Muestra}$$

$$M_{10B} = 1292.5 \frac{g}{L}$$

Para el resto de las muestras los calculos fueron similares obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 40. Concentración de Azúcares Reductoras Totales

MUESTRA	Concentración de Azúcares Reductoras Totales (g/L)
1A	1268.08
1B	1299.53
2A	1629.72


2B	1676.89
3A	941.82
3B	969.34
4A	1275.94
4B	1244.50
5A	1346.70
5B	1319.18
6A	1244.50
6B	1275.94
7A	1087.26
7B	1059.75
8A	1216.98
8B	1252.36
9A	1232.70
9B	1197.33
10A	1283.81
10B	1292.50

Anexo 4. DETERMINACION DE Hg EN EL MUCILAGO DE CACAO CCN-51.

La determinación de Hg se realizó en una muestra de Camilo Ponce Enríquez, mediante este valor de concentración se establecerá si existe afectación en los cultivos de cacao por parte de la actividad minera que se desarrolla en la zona.

El resultado obtenido es el siguiente.

El análisis se realizó en el CESEMIEN, el resultado fue No Detectado, el informe del resultado se expone a continuación.

 CESEMIN Centro de Estudios y Servicios de Investigación y Tecnología UNIVERSIDAD DE CUENCA	REPORTE DE RESULTADOS	N° RMG 1031 Hoja 1 de 1
--	------------------------------	----------------------------

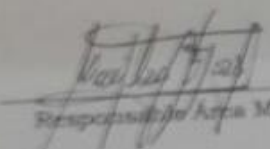
CLIENTE:	ING. JORGE DELGADO
MUESTRA:	MUCILAGO DE CACAO
FECHA:	2016-02-19

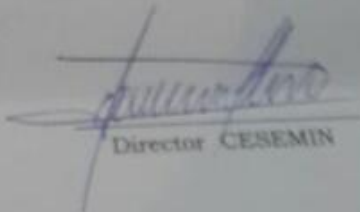
ANÁLISIS QUÍMICO

MUESTRA	Hg mg/l
MC1Hg	N.D.

OBSERVACIONES:

1. N.D.: No detectado. Límite de detección de Hg 0,005mg/L
2. Método: Absorción Atómica con Generación de Hidruros
3. Fecha de recepción de muestra: 2016-02-16
4. Fecha de realización del ensayo: 2016-02-16

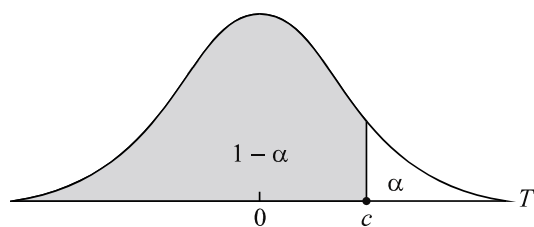

Responsable Área Metales


Director CESEMIN

cc. archivo
máx.


Notas: Este informe sólo afecta a los objetos sometidos a ensayo.
Este informe no deberá reproducirse más que en su totalidad, previa autorización escrita.
El laboratorio no se responsabiliza del muestreo. Los análisis se efectúan sobre la muestra entregada.
Los datos sobre la muestra, incluido el nombre, son proporcionados por el cliente y son de su entera



Anexo 5. TABLA t STUDENT.




	$1 - \alpha$							
r	0.75	0.80	0.85	0.90	0.95	0.975	0.99	0.995
1	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	0.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	0.765	0.978	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	0.741	0.941	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	0.727	0.920	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	0.718	0.906	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	0.711	0.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	0.706	0.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	0.703	0.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	0.700	0.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	0.697	0.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	0.695	0.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
13	0.694	0.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	0.692	0.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	0.691	0.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	0.690	0.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	0.689	0.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	0.688	0.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	0.688	0.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	0.687	0.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	0.686	0.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	0.686	0.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	0.685	0.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	0.685	0.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	0.684	0.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	0.684	0.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	0.684	0.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	0.683	0.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	0.683	0.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
30	0.683	0.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750
40	0.681	0.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704
60	0.679	0.848	1.046	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660
120	0.677	0.845	1.041	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617
∞	0.674	0.842	1.036	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576

Anexo 6. EQUIPOS USADOS EN EL ESTUDIO

IMAGEN	NOMBRE
	<p>ESPECTROFOTOMETRO DE ABSORCION ATOMICA.</p>
	<p>ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE</p>
	<p>Ph METRO</p>
	<p>BALANZA ANALITICA</p>

	<p>CAMPANA EXTRACTORA</p>
	<p>FLUIDIFICADOR</p>

Anexo 7. IMÁGENES DEL MUESTREO Y LA EXTRACCION DE LAS MUESTRAS.

IMAGEN	REFERENCIA
	<p>MUESTRAS DE CACAO CCN-51</p>

	<p>MUCILAGO + PEPA DE CACAO.</p>
	<p>MUCILAGO DE CACAO CCN-51</p>
	<p>PALANTACION DE CACAO CCN-51 EN LA TRONCAL</p>



PLANTACION DE CACAO CCN-51
TRONCAL